

**Induktion der Transplantat-Toleranz durch Behandlung
mit subcellulären Antigenfraktionen**

von
Gisela Jüttner
aus Bautzen

1968

Aus der Chirurgischen Klinik der
Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. G. Hegemann

Induktion der Transplantat-Toleranz durch Behandlung mit
subcellulären Antigenfraktionen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

Vorgelegt von

Gisela Jüttner

aus Bautzen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

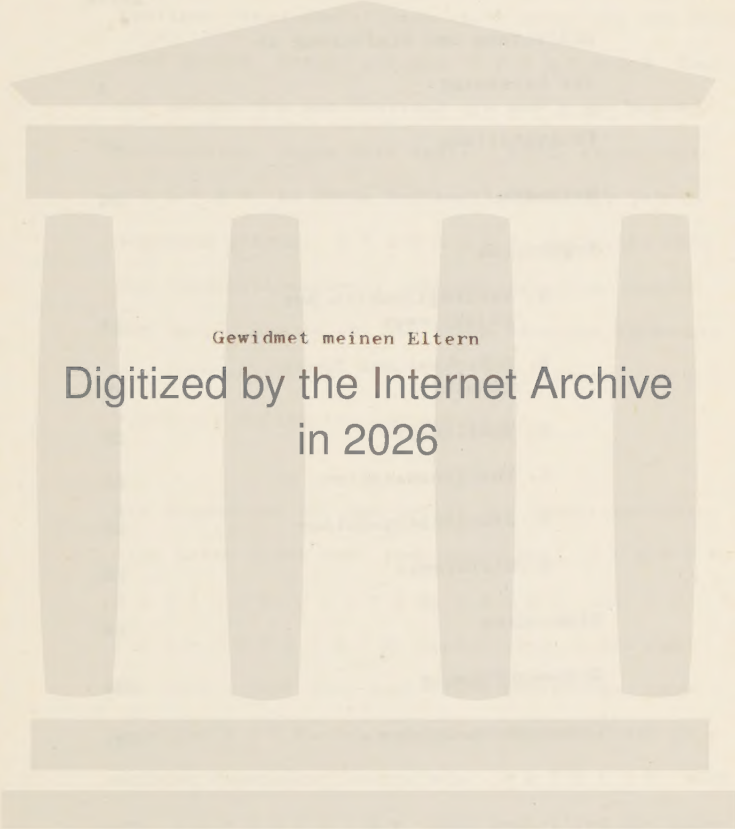


Dekan: Professor Dr. med. E. Wetterer

Referent: Privatdozent Dr. med. H. Bunte

Korreferent: Professor Dr. med. G. Hegemann

Tag der mündlichen Prüfung: 25. März 1968



Gewidmet meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

D i s p o s i t i o n

	Seite
Einleitung und Einführung in die Literatur	1
Fragestellung	25
Methodik	26
Ergebnisse	
1. Verträglichkeit der Injektionen	37
2. Schicksal der Trans- plantate	37
3. Abbildungen	39
4. Überlebenszeiten	65
5. Sektionsergebnisse	93
6. Histologie	93
Diskussion	94
Zusammenfassung	100
Literaturverzeichnis	103

Die Geschichte der Transplantation ist sehr alt. Bereits im Jahre 3500 v. Chr. G. befaßten sich die Ägypter mit Nasenplastiken. Die ersten Anfänge der heutigen Transplantationstechnik gehen auf das Jahr 1869 zurück. Damals entnahm I. E. V. E. R. D. I. N. Haut von seinem Arm und übertrug sie auf einen Schwer- verbrannten. Kurze Zeit später, 1872, verpflanzte O. L. L. I. E. K. in Paris Vollhautlappen, die jedoch zugrunde gingen. T. H. I. E. K. S. C. H. entfernte 1874 das Granulationsgewebe sekundär geheilter Wunden und deckte den Defekt mit einem Streifen Epidermis ab. 1875 wandte W. O. L. F., ein Jahr später K. K. A. U. S. E., fettfreie Vollhauttransplantate an.

Die Ergebnisse auf dem Gebiet der Homotransplantation sahen nicht sehr ermutigend aus. B. K. E. W. E. R., E. S. M. A. R. C. H., F. R. A. N. K. E., N. A. G. E. L. und L. U. C. A. S. - C. H. A. M. P. O. N. N. I. E. R. E. berichteten in der Zeit von 1882 - 1887 über zahlreiche Mißerfolge. Nach ungefähr 6 - 8 Wochen schmolzen die von ihnen gemachten Homotransplantate weg. R. A. T. H. L. E. Y. 1886 und W. I. N. I. W. A. K. T. E. R. 1892 bestritten den praktischen Wert der Homotransplantation überhaupt. L. E. X. E. R. stellte 1911 die Behauptung auf, daß die verpflanzte Haut zwar zunächst anwachse, später

aber wieder abgestoßen werde. U N D E R W O O D, P E R T H E S, E D E N, T A K A H D S K I und M C W I L L I A M S bestätigten das.

Auch Heterotransplantationen wurden relativ früh versucht. H A V E N verwendete im Jahre 1877 erstmals Schweinehaut. In zahlreichen weiteren Versuchen wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen Frösche, Hühner, Hunde etc. als Spender ausgewählt. L E E behandelte 1880 in Boston ein zehnjähriges Mädchen mit schweren Verbrennungen mit Hundstiellappen von Lämmern, allerdings ohne Erfolg. Die Haut heilte nicht ein, das Mädchen starb. P E T E R S E N, F O W L E R, S M I T H, D U B O U S Q U E T und L A B O R D E R I E fanden durch histologische Untersuchungen heraus, daß Tierhauttransplantate zwischen dem 5. und 10. Tag abgestoßen werden und nur eine Lage Bindegewebe und elastische Fasern zurückbleiben, die später epithelisiert werden¹. R E V E R D I N behauptete, daß Heterotransplantate überhaupt nicht anwachsen, sondern nur die Epithelisierung des darunter liegenden Gewebes fördern.

Welcher Art sind nun die Ursachen dieser Mißerfolge?
Die meisten Untersuchungen auf diesem Gebiet wurden

an Hand von Homotransplantationen durchgeführt.
Eine zentrale Stellung nahm dabei M E D A W A K²
ein. Er beobachtete bei Verpflanzung homologer
Vollhautlappen bei Kaninchen um den 4. bis 5. Tag
herum Zeichen der Entzündung mit leukocythärer In-
filtration und um den 9. bis 10. Tag herum voll-
ständige Nekrose. Er vermutete, daß es sich dabei
um immunologische Vorgänge³ handelte und führte als
Beweis das sogenannte S E C O N D - S E T - P H Ä N O-
M E N an, das sich in einer beschleunigten Abstoßung
eines Zweittransplantates vom gleichen Spender auf
den gleichen Empfänger äußert^{4, 5}.

Heute vermutet man, daß die aus Kernbestandteilen
stammenden Antigene zusammen mit den Phagocyten auf
dem Lymphweg zum regionalen Lymphknoten gelangen,
daß dort die Antikörperbildung in den Plasmazellen
stattfindet und anschließend die Antikörper auf dem
Blutweg zum Transplantat gelangen und durch die
Antigen- Antikörper-Reaktion die Abstoßung erfolgt.
Sobald zwischen Transplantat und Wirtslager Lymph-
drainage^{6, 7} und Blutgefäßkommunikation hergestellt
sind, werden die im Transplantat freigesetzten Anti-
gene auf dem Lymphweg zu den antikörperproduzierenden
Reaktionszentren transportiert.

M E D A W A R bewies, daß diese für die immunologische Reaktion verantwortlichen Antigene nicht frei, sondern zellgebunden⁸ vorliegen und vermutete als Träger der antigenischen Eigenschaften die Leukocyten, da durch Injektion von Spenderleukocyten ein nachfolgendes Transplantat des gleichen Spenders vom gleichen Empfänger beschleunigt abgestoßen wird.

Den Nachweis dafür, daß die ersten Zeichen der Reaktivität auf ein Homotransplantat in regionalen Lymphknoten auftreten, brachte M I T C H I S O N⁹. Histologisch wurden pyronin- und mononucleäre Zellen gefunden.

Neben dem S E C O N D - S E T - P H Ä N O M E N gibt es noch weitere Beweise für die allergische Genese der Abstoßungsreaktion. So lassen sich die in den regionalen Lymphknoten gebildeten Antikörper serologisch nachweisen¹⁰.

Durch Verwendung zellundurchlässiger Milliporkammern, in denen die Transplantate vor den Empfängerleukocyten abgeschirmt werden, konnte A L G I R E¹¹ lange Überlebenszeiten bei Homotransplantaten erreichen. Zellgebundene Antikörper an Lymphocyten

des Empfängerorganismus gehen mit Nucleoproteiden der Spenderzellen eine spezifische Bindung ein^{12, 13}.

M I T C H I S O N und D U B E¹⁴ übertrugen spezifische Sensibilisierung gegen transplantierte organische Gewebe durch Lymphzellen. Mit Serum gelang das nicht.

Schließlich erwiesen B R E N T, B R O W N und M E D A W A R¹⁵ die Zellgebundenheit der Abstoßungsreaktion dadurch, daß sie lebende Zellen des Hautspenders intradermal in den sensibilisierten Empfänger spritzten und so eine tuberkulinartige Reaktion auslösten. Wurden umgekehrt Zellen eines regionalen Lymphknotens des sensibilisierten Empfängers intradermal in den ursprünglichen Hautspender injiziert, dann fand eine sogenannte T R A N S F E R - R E - A C T I O N statt, das heißt eine lokale Übertragung des reaktiven Zustandes. Auch diese Reaktion ließ sich durch Serum nicht auslösen.

Interessant ist in diesem Zusammenhang auch die Tatsache, daß bei Patienten mit Agamaglobulinämie, also Antikörpermangel, Transplantate gut anheilen¹⁶.

Nach M E D A W A R liegt das Wesen der Unverträglichkeitsreaktion bei Homotransplantation in einer erworbenen spezifischen individuellen Immunität.

Diese individuelle Immunität zu durchbrechen und einen Status der Toleranz zu schaffen, war das Ziel einer ganzen Flut nun einsetzender Untersuchungen.

M E D A W A R¹⁷ definierte diesen Status der Toleranz als einen Zustand der Indifferenz oder Inaktivität gegenüber einer Substanz, die normalerweise eine immunologische Reaktion auslösen würde. Nach W O O D - R U F F¹⁸ stellt spezifische Toleranz einen Zustand der reduzierten oder fehlenden Reaktivität - als Folge einer vorherigen Berührung mit dem Antigen (oder einer Gruppe von Antigenen) - gegenüber diesem Antigen (oder einer Gruppe von Antigenen) dar, die normalerweise eine spezifisch immunologische Reaktion auslösen würde.

Die Beeinflussung der Toleranz ist an 3 Stellen möglich¹⁹:

- 1) Angriff am Antigen.
- 2) Unterbrechung des Weges Antigen - Antikörper - Antigen.
- 3) Beeinflussung der Antikörperbildung.

1) Angriff am Antigen.

T O O L A N²⁰ machte die Entdeckung, daß fetales Kaninchengewebe bei erwachsenen Kaninchen anwächst, wenn es im ersten Drittel der Schwangerschaftsperiode oder noch eher vom Embryo abgetragen wurde. Ähnliche Versuche führte S N E Y D E R M A N an krebserkrankten Patienten durch und konnte ebenfalls verlängerte Überlebenszeiten für Homotransplantate nachweisen.

G A I L L A K D entnahm Neugeborengewebe aus der Nebenschilddrüse, konservierte es 10 - 15 Tage in Plasma und Serum des zukünftigen Empfängers und transplantierte es anschließend 16 Patienten mit postoperativer Tetanie. Bei 7 Patienten übernahm das verpflanzte Gewebe die Funktion im Wirt, in 9 Fällen schlug der Versuch fehl.

Andere Forschungsgruppen machten sich den embryonalen Zellaustausch zwischen Blutchimären zunutze. So berichtete O W E N 1945 erstmals von einem Erythrocytenchimärismus bei Kälberzwillingen. Jedes Tier besitzt neben den eigenen Erythrocyten noch die des Zwillings. In seltenen Fällen konnte dieses Phänomen auch bei anderen Tieren beobachtet werden, zum Beispiel bei Lämmern. Diese Chimären tolerieren

auch gegenseitig Hauttransplantate. W O O D R U F F und L E N N O X²¹ tauschten Haut zwischen menschlichen Zwillingschimären aus, die einheilte.

2) Beeinflussung des Weges Antigen - Antikörper - Antigen.

Als besonders günstige Wirtslager für Homotransplantate erwiesen sich vordere Augenkammer^{22, 23}, Substantia propria der Cornea²⁴, das Gebiet der Meningen im Gehirn²⁵, Hoden und die Hamstertaschen²⁶. In dieser Umgebung hielten sich die homologen Transplantate besonders lange, vermutlich auf Grund der fehlenden Gefäßkommunikation bzw. mangelnder Lymphdrainage (Gehirn).

Von mehr theoretischem Interesse waren A L G I R E 's Versuche mit Millinorkammern. Durch das Filter konnte zwar die ernährende Flüssigkeit eindringen, die Ein- bzw. Auswanderung von Zellen war jedoch unmöglich. Auf diese Weise erzielte er lange Überlebenszeiten der Transplantate.

3) Beeinflussung der Antikörperbildung.

B U K N E T und F E N N E R versuchten 1949 die Tatsache, daß der Organismus in der Regel gegen

eigene Körperbestandteile nicht immunologisch reagiert, dadurch zu erklären, daß die Körperzellen eine Art S E L F - M A R K E R - K O M P O N E N T E besitzen und daß sie im embryonalen Leben oder im frühen postnatalen Leben die Fähigkeit, diese S E L F - P A T T E R N zu erkennen, entwickeln. Sie schlossen daraus, daß, wenn der Embryo intrauterin mit einem Antigen in Berührung kommt, er dieses als körpereigenes übernimmt und auch im späteren Leben keine immunologische Reaktion gegen dieses auslöst.

Bestätigt wurde diese Hypothese durch B I L L I N G - H A M, B H E N T und M E D A W A K^{27,28}. Sie spritzten intrauterin Mäuseembryonen vom Stamm CBA mit einer Suspension lebender Milzzellen vom Stamm A. Im postnatalen Leben tolerierten die so behandelten CBA Mäuse Haut vom Stamm A.

H A S E K^{29,30,31} erreichte das gleiche Ergebnis durch synchoriale Parabiose bei Vogelembryonen. Beim Ausbrüten wurden diese Parabionten getrennt. Von da an bildeten sie keine Antikörper gegen Zellen des anderen Parabionten und tolerierten gegenseitig Hauttransplantate.

Später fand man heraus, daß spezifische Toleranz nicht nur bei Embryonen, sondern auch bei neugeborenen Tieren induziert werden konnte, wenn man die Tiere kurze Zeit nach der Geburt mit Spendermilzzellsuspensionen behandelte. W O O D : U F F und S I M P S O N arbeiteten 1954 und 1955 an Katten, B I L L I N G H A M und B R E N T 1957 an Mäusen.

M E D A W A R³³ lieferte die Erklärung dafür. Wenn ein Tier einem Antigen ausgesetzt wird, bevor es die Fähigkeit entwickelt, eine immunologische Reaktion gegen dieses auszulösen, wird, so behauptet M E D A W A R, die Entwicklung dieser Fähigkeit auch später gestört und verzögert.

Ein eigenartiges Erscheinungsbild, das nach Injektion von Milzzellen bei neugeborenen Mäusen auftrat, und sich in Gewichtsverlust, Atrophie des lymphatischen Gewebes, Diarrhoe und eventuell Tod äußert, beschrieben B I L L I N G H A M und B R E N T³⁴. Sie führten das auf die sogenannte G R A F T - V E R S U S - H O S T - R E A C T I O N zurück, auf eine immunologische Reaktion transplantierte Zellen gegen den Wirt, und bezeichneten es als R U N T - D I S E A S E .

Bei erwachsenen Mäusen konnte durch abgetötetes Gewebe Verlängerung der Überlebenszeit bei Homotransplantaten hervorgerufen werden. Beobachtungen dieser Art machten zunächst F L E X E R und J O B L I N G, später C A S E Y bei Tumorphomotransplantationen.

K A L I S S und seine Mitarbeiter wiesen nach, daß dieses E N H A N C E M E N T mit dem Auftreten spezifischer Antikörper im Empfängerserum zusammenhängt^{35,36}.

Später gelang die Verlängerung der Überlebenszeit auch bei Verwendung normaler abgetöteter Gewebe (K A L I S S und S P A I N 1952, B I L L I N G H A M , B R E N T und M E D A W A R 1956, N E L S O N 1953).

Eine Reihe Untersuchungen wurde auch mit Bestrahlungen durchgeführt, um durch Blockade oder völlige Zerstörung des antikörperbildenden RES immunologische Toleranz zu erzielen. Zwei Methoden wurden angewandt, nämlich Bestrahlung mit letaler Dosis und anschließend Injektion haemopoetischer Zellen vom prospektiven Hautspender oder einem Tier der gleichen genetischen Konstitution (M A I N und P R E H N 1955, T R E N T I N 1956, 1957, B A K N E S, F O R D,

ULLERY und LOUIT 1958, BARNES und LOUIT 1959) oder Applikation subletaler Dosis und anschließend Injektion mit Splendermilzzellen (MAIN und PREHN 1957, MICHIE und WOODKUFF 1962).

An dieser Stelle sei auch kurz auf die immunologische Paralyse hingewiesen. METCHNIKOFF fand im Jahre 1883, daß bei Injektion großer Dosen Sporen keine Phagocytose auftrat und sich infolgedessen die Sporen rasch im Empfänger vermehrten. Auf diese Beobachtung kam FELTON zurück und injizierte Pneumokokkensäccharide. Bei niedrigen Dosen stellte sich Immunisierung ein, bei sehr hohen Dosen trat immunologische Paralyse auf. Das Antigen soll dabei so fixiert sein, daß es keine Antikörperbildung in Gang setzen kann.³⁷ SISKIND, PATERSON und THOMAS 1963 erzeugten bei neugeborenen Mäusen durch Anwendung kleiner Dosen von Pneumokokkenpolysaccharid Immunisierung, bei großen Dosen trat auch hier Paralyse auf.

Die Wirkung der Pharmaka beruht ähnlich der Bestrahlung auf einer Reduktion oder Zerstörung der antikörperbildenden Zellen des RES. SCHWARTZ und

seine Mitarbeiter konnten mit Hilfe von 6 - Merkaptopurin die Überlebenszeit von Homotransplantaten signifikant verlängern. M E E K E R, C A L N E, H U B A Y, H U M E und andere arbeiteten auf gleicher Basis. Vermutlich blockiert das Purinderivat die Synthese einiger Ribonucleinsäuren und hemmt damit die Antikörperproduktion³⁷. Versuche mit Methotrexat, einem Antagonisten der wachstumsfördernden Folsäure, führten zu unterschiedlichen Ergebnissen. B L U M E N S T O C K wandte diese Methode bei Lungentransplantationen an, N A G E L bei Nierentransplantationen. M O O R E arbeitete mit Stickstofflost, F O K S T E R empfahl die Anwendung von Antihistaminika über eine längere Zeitspanne.

Zahlreiche Versuche wurden auch mit Parabiosen gemacht. R U B I N 1959, M A R T I N E Z, S H A P I R O, K E L M A N, O N S T A D und G O O D 1960^{38,39,40}, J E N S E N und S I M O N S E N.

Eine weitere Möglichkeit, die Überlebenszeit homologer Hauttransplantate bei erwachsenen Mäusen zu erreichen, bietet die einmalige intravenöse Applikation einer großen Dosis lebender Spendermilzzellen^{41,42}

oder die wiederholte intravenöse oder intraperitoneale Injektion von Spendermilzzellen über mehrere Wochen⁴³. B K E N T und G O W L A N D⁴⁴ konnten durch Injektion von Milzzellen bei Mäusen Toleranz gegenüber von Homotransplantaten erzeugen. Sie stellten dabei fest, daß das Ausmaß der Toleranz von der Häufigkeit der Injektionen und damit von der Dosis der injizierten Zellen abhängig war. Die Toleranz konnte durch Übertragung normaler Lymphknotenzellen vom Wirt unterbrochen werden. U P H O F F^{45,46} erreichte bei Erwachsenen das Anheilen von Homotransplantaten durch Verwendung eines Antimetabolikums in Verbindung mit intraperitoneal verabreichten Milzzellen.

In den letzten Jahren wurden viele Untersuchungen durchgeführt, um festzustellen, ob und inwieweit subzelluläre Fraktionen homologe Sensibilisierung hervorrufen können. Es wurde die Möglichkeit diskutiert, daß lebende sensibilisierte Zellen antikörperähnliches Material an RES-Zellen des Wirtes abgeben können, und daß diese daraufhin so reagieren, als ob sie selbst sensibilisiert worden wären.

L A W R E N C E⁴⁷ gelang es, aus menschlichen Leukocyten eines Spenders mit verzögerter Hypersensi-

bilität vom Tuberkulintyp einen Faktor zu extrahieren, mit dem er bei einem vorher nicht sensibilisierten Empfänger eine verzögerte Hypersensibilisierung induzieren konnte. Dieser Faktor wurde als TRANSFER-FAKTOR bezeichnet und erwies sich als äußerst stabil gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen.

Bei Menschen gelang die Übertragung der Allosensibilität durch lokale oder systematische Injektion von Leukocytenextrakten von sensibilisierten Spendern.

TURK⁴⁸ induzierte mit zellfreiem Material Sensibilität gegen Picrylchlorid bei Meerschweinchen.

POWELL⁴⁹ und seine Mitarbeiter konnten bei Meerschweinchen durch Verwendung eines zellfreien Extraktes aus dem Lymphknoten eines Empfängers, der das Transplantat abgestoßen hatte, beim Spender eine Hautreaktion auslösen.

NAJARIAN und FELDMAN⁵⁰ übertrugen mit subzellulären Mechanismen Allosensibilität bei Nagetieren.

Kürzlich konnten MANNICK und EGDAHL⁵¹ durch Inkubation normaler Lymphknotenzellen vom Kaninchen A mit Ribonucleinsäure vom Kaninchen B,

das durch ein Hauttransplantat vom Kaninchen C sensibilisiert worden war, die Zellen von A immunologisch verändern. Die inkubierten Zellen wurden bei diesen Versuchen intradermal in Kaninchen C injiziert.

L I N D E R⁵² beobachtete, daß bei erwachsenen weiblichen Mäusen vom Stamm (DBA x C 57 BL) F₁ gegenüber männlichen Mäusen vom gleichen Stamm durch Injektion eines Homogenisates von Leber, Milz und Nieren Toleranz erzeugt werden kann.

M A R T I N E Z⁵³ induzierte durch wiederholte Applikation von Milzzellextrakten, die keine lebenden Zellen mehr enthielten, Toleranz gegen H - 2 Unverträglichkeit.

H O W A R D, G O R D E N, P A L L O R A, M A R T I N E Z und G O O D⁵⁴ erweiterten diese Entdeckungen, indem sie Unterfraktionen zerstörter Milzzellen herstellten und diese danach beurteilten, in welchem Ausmaß sie bei weiblichen C 57 BL Mäusen Toleranz gegenüber männlicher Haut hervorrufen konnten.

M E D A W A R⁵⁵ und seine Mitarbeiter behandelten Lymphzellen mit Ultraschall und Aqua dest. Der so gewonnene Extrakt wurde 45 Minuten lang bei 27700 xg

zentrifugiert. Sediment und Überstand wurden durch beschleunigte Abstoßung von Hauttransplantaten auf ihre Aktivität hin untersucht. Die Antigenaktivität war gleichmäßig auf Sediment und Überstand verteilt. Anschließend wurde der Überstand nochmals zentrifugiert, diesmal bei 173000 xg. Es fanden sich nur noch Spuren von Antigen im Überstand. Wenn der Überstand von 27700 xg aber in 0,15 Na Cl gegeben wurde und bei 27700 xg wiederholt zentrifugiert wurde, erschien der größte Teil der Aktivität im Sediment. Elektrolyte bewirkten offensichtlich Aggregation der Antigenfragmente.

M O N A C O, W O O D und R U S S E L L veröffentlichten 1964 eine Arbeit⁵⁶ über die Herstellung subzellulärer Fraktionen und deren biologische Eigenschaften. Sie gewannen durch Homogenisation und Zentrifugieren von Spendermilzgewebe einen Extrakt, dessen Aktivität sie ebenfalls durch beschleunigte Abstoßung von Hauttransplantaten des gleichen Spenders, die der Injektion von Antigen folgte, bestimmten. Spender und Empfänger unterschieden sich durch H - 2. Durch Zentrifugieren des Milzhomogenisates bei verschiedener Erdbeschleunigung wurden verschiedene Antigenfraktionen gewonnen. Diese Fraktionen erwiesen sich als sehr stabil. Kleine Antigendosen sensibili-

sierten ein nachfolgendes Hauttransplantat, große Dosen verlängerten die Überlebenszeit signifikant.

Neuerdings wurde die Übertragung der Allosensibilisierung durch kRNA diskutiert.

ELLEM⁵⁷, COLTER und ALEXANDER⁵⁸ extrahierten RNA aus Viren, die unter geeigneten Inkubationsbedingungen menschliche und tierische Zellen durchdringen und dort metabolische Ereignisse im Sinne einer echten Virusinfektion einleiten kann. KRAUS⁵⁹ und SZYBALSKI⁶⁰ inkubierten Zellen mit fremder RNA und änderten auf diese Weise das metabolische Verhalten mancher Säugetierzellen.

VOLKIN⁶¹, NIRENBERG⁶², SPEYER⁶³, SPIEGELMAN⁶⁴ bestätigten die von JACOB und MONOD vorhergesagte Existenz einer MESSENGER - RNA, die in der Art der Basenfolge der Purin- und Pyrimidinbasen den Code für die Proteinsynthese der Zelle aus DNA - Segmenten im Kern in sich trägt. Diese Proteinsynthese verläuft nur bei Anwesenheit der MESSENGER - RNA.

SCHWARZ und REEKE⁶⁵ konnten durch iso-

topisch markierte RNA nachweisen, daß auch RNA, die nicht aus Viren extrahiert worden war, in den Zellen aufgenommen wird. M A N N I C K und E G D A H L, die ebenfalls mit Isotopen arbeiteten, bestätigten das.

D E C A R V A L H O, R A N D⁶⁶ und N I U konnten bei Nagetieren durch RNA, die sie aus normalen Geweben extrahiert hatten, malignes Tumorwachstum hemmen.

A M O S und K E A K N S⁶⁷ verwendeten aus E. coli extrahierte RNA, um Kückenfibroblasten dazu zu bringen, bakterielle Proteine zu synthetisieren.

M A N N I C K und E G D A H L⁶⁸ inkubierten normale Lymphknotenzellen eines Kaninchens mit RNA, die aus den Lymphknoten eines zweiten Kaninchens, das ein Homotransplantat erhalten hatte, extrahiert worden waren. Auf diese Weise konnten sie bei den Lymphknotenzellen des nicht vorbehandelten Tieres einen Status der Immunität auslösen.

F I S H M A N und A D L E R⁶⁹ induzierten die Antikörpersynthese durch Makrophagen RNA. Inkubierten sie diese RNA mit Kattenlymphzellen und setzten sie letztere dann einem Bakteriophagenantigen aus, dann

bildeten sie spezifische Antikörper gegen diese Antigene.

M A N N I C K und E G D A H L⁶⁸ kamen durch zahlreiche Versuche zu dem Ergebnis, daß Lymphknoten kNA bei Kaninchenlymphknotenzellen die Transplantationsimmunität sowohl hemmen als auch fördern kann. Sie vermuteten, daß die fremde M E S S E N G E R - RNA mit der von den immunen Zellen selbst produzierten kNA um die Ausnutzung der Ribosomeneinheiten "wetteifert", und daß die fremde RNA so die Antikörpersynthese hemmt, so daß Immunität resultiert.

Durch fremde RNA konnte bei systematischer Injektion die Überlebenszeit signifikant verlängert werden^{70,71,72}.

F R A N K L I N L. A S H L E Y, B E R M A N und J E S S A M Y⁷³ extrahierten kNA aus den Milzen von Wistarratten, mit der sie verlängerte Überlebenszeiten von Homotransplantaten erzielten, wenn sie Long Evans Ratten als Empfänger injiziert wurde. Dabei erwies sich RNA aus Milzgewebe genau so wirksam wie RNA, die kombiniert aus Leber, Milz und Thymus oder Haut gewonnen worden war. Häufigkeit der Injektionen und Dosis bestimmten die Verlängerung der Überlebenszeit.

Daß das Phänomen der erworbenen Toleranz nicht nur auf Homotransplantationen beschränkt ist, bewiesen Versuche von H A N A N, O Y A M A, D I X O N und M A U R E R, C I N A D E R und D U B E R T, sowie S M I T H und B R I D G E S, die mit Proteinantigen arbeiteten. Sie fanden heraus, daß Kaninchen, die während der Neugeborenenperiode mit Rinder- oder Menschen-Serumalbumin gespritzt worden waren, später niemals mehr Antikörper gegen das Protein bilden.

Durch embryonale Parabiose zwischen Truthahn und Kücken konnten bei Heterotransplantaten Überlebenszeiten bis zu 3 Monaten erreicht werden. Die Transplantate heilten an und zeigten Federwuchs⁷⁴.

E G D A H L untersuchte bei Kattenembryonen die Auswirkungen intrauteriner Injektionen von Kaninchen- oder Mäusemilzzellsuspensionen auf die Überlebenszeit von Transplantaten, die ihnen im Alter von 2 - 4 Monaten verabreicht wurden. In einer zweiten Versuchsreihe wurden neugeborenen katten Kaninchenmilz- oder Kaninchenlymphknotenzellen gespritzt und später ebenfalls im Alter von 2 - 4 Monaten Hauttransplantate übertragen. Weder bei den in utero noch bei den in der Neugeborenenperiode vorbehandel-

ten Katten konnten nennenswerte Verlängerungen der Überlebenszeiten festgestellt werden.

Z A A L B E R G, V O S S und v a n B A K K U N⁷⁵ konnten bei Mäusen Toleranz für Kattenhaut durch Bestrahlung mit letaler Dosis und anschließender Transfusion von Kattenknochenmark erreichen.

K E I L L E Y und W O O D K U F F⁷⁶ versuchten bessere Überlebenszeiten für Heterotransplantate ohne Vorbehandlung mit tödlicher Bestrahlungsdosis oder intrauteriner Injektion zu erreichen. Sie verwendeten erwachsene männliche Inzuchtratten als Spender für Haut- und Knochenmark und neugeborene Mäuse vom Stamm C 57 BL als Empfänger. Weder durch subletale Bestrahlungsdosis mit 200 r noch durch intravenöse Injektion von Kattenknochenmark innerhalb der ersten 12 Stunden der Geburt und wiederholter intraperitonealer Injektion von Rattenknochenmark in der ersten und zweiten Lebenswoche konnten Unterschiede zu unbehandelten Kontrolltieren hinsichtlich der Überlebenszeit von Hauttransplantaten erzielt werden. Mäuse, die kombiniert mit Bestrahlung und Knochenmarksinjektion behandelt worden waren, zeigten in hohem Maße R U N T - D I S E A S E,

die überlebenden Tiere waren jedoch teilweise tolerant und hielten in Einzelfällen Rattenhaut-transplantate bis 51 Tage.

S K O L I C, F A R P O U K, U L I N und H O W A K D⁷⁷ übertrugen embryonale Kalbshaut auf Hunde. Die Transplantate wurden jedoch gewöhnlich nach 5 - 6 Tagen, in ganz seltenen Fällen erst nach 13 Tagen abgestoßen.

K E N N E T H M A T S U M U R A⁷⁸ übertrug fetale menschliche Haut auf Mäuse vom Stamm C 3 H / Di Sn und berichtet, daß von 45 Transplantaten 25 angenommen wurden. Davon erreichten nur ein geringer Prozentsatz Überlebenszeiten bis zu 11 Monaten. Er fuhr das auf eine gesteigerte Antigenadaption zurück.

In späteren Versuchen wurden in seinem Laboratorium endokrine Kaninchentransplantate, die in der ersten Schwangerschaftshälfte entnommen worden waren, 32 Tage lang mit RNA des Wirtes vorbehandelt und dann Mäusen transplantiert. Es ergab sich keine signifikante Verlängerung im Vergleich zu unvorbehandelten fetalen Geweben. Ähnliche Versuche mit erwachsenen Tieren zeigten im Verhältnis zu den

mit embryonalen Gewebe durchgeführten Experimenten
beschleunigte Abstoßung.

F r a g e s t e l l u n g

In einem im S U R G I C A L F O R U M erschienenen Artikel beschrieben M O N A C O, W O O D und R U S S E L L eine relativ einfache Methode zur Herstellung von Transplantationsantigenen in zellfreier Form in Zuckerlösung⁷⁹. Durch Vorbehandlung mit diesen Antigenfraktionen konnte die Überlebenszeit von Homotransplantaten signifikant verlängert werden. Es lag nahe, dieses Verfahren auf dem Gebiet der Heterotransplantation auszuprobieren.

M e t h o d i k

In den vorliegenden Untersuchungen wurde nach Vorbehandlung der Empfängertiere mit zellfreiem Milzantigenextrakt des prospektiven Spenders Haut von erwachsenen weiblichen Bastardhunden auf erwachsene weibliche Mäuse vom Stamm NMRJ übertragen. Der durch Homogenisieren und Zentrifugieren gewonnene Antigenextrakt wurde an 28 aufeinanderfolgenden Tagen den Mäusen intraperitoneal injiziert. 3 Tage nach der letzten Injektion erhielten letztere ein Hauttransplantat vom gleichen Hund, dessen Milz zur Herstellung der Antigenfraktionen verwendet worden war. Die Fraktionen I, II, III, IV, V wurden durch Zentrifugieren mit verschiedener Erdbeschleunigung gewonnen. In einem Kontrollversuch erhielten unvorbehandelte Mäuse vom gleichen Stamm NMRJ vom gleichen Hund ein Transplantat. Alle Versuchstiere kamen sofort nach der Operation in Einzelkäfige. Die Transplantate wurden täglich makroskopisch untersucht und in regelmäßigen Abständen fotografiert. Nach der Abstoßung wurden Transplantat und Transplantatbett zur histologischen Untersuchung eingeschickt. Außerdem erhielten sämtliche Versuchsmäuse ein Zweittransplantat vom gleichen Spender, welches wiederum täglich untersucht und regelmäßig fotografiert wurde. Nachdem

auch das Zweittransplantat abgestoßen worden war, wurden die Mäuse getötet und Milz, Leber, Transplantat und Transplantatbett zur histologischen Untersuchung eingeschickt.

1. Herstellung des Homogenisates

Die Hundemilz wurde unter sterilen Bedingungen entnommen. Das Versuchstier, ein weiblicher Bastardhund, erhielt ein Muskelrelaxans, wurde intubiert und beatmet und mit Trapanal narkotisiert und erhielt durch intravenöse Dauertropfinfusion 5% Glucose zugeführt. Nach Abdecken mit sterilen Tüchern wurde das frei gelassene Operationsfeld mit einem elektrischen Haarentferner rasiert und anschließend mit Pilka behandelt und mit Codan versorgt. Mit einem Skalpell wurde dann ein ungefähr 10 cm langer Schnitt senkrecht zum linken Rippenbogen gelegt, die Milz aufgesucht, die Gefäße sorgfältig abgebunden, das Organ herausgenommen und sofort in ein steriles Tuch gehüllt. Die Wunde wurde mit fortlaufender Naht geschlossen und mit Nebacetinspray besprüht. Der Hund erhielt außerdem ein Breitbandantibiotikum.

Die Hundemilz wurde in einem sterilen Becherglas mit Ringerlösung gründlich gewaschen, um möglichst

alles Blut herauszuspülen. Die Kapsel wurde soweit das möglich war mit einem Skalpelli abgezogen, wobei überflüssige Substanzverluste sorgfältig vermieden wurden. Mit einer Schere wurde die von der Kapsel befreite Milz in ungefähr hirsekorngroße Stückchen zerkleinert, die nochmals in kingerlösung ausgepreßt wurden.

Im nächsten Arbeitsgang wurde die zur Herstellung der Antigenfraktionen benötigte Milzmenge abgewogen. In dem oben zitierten Artikel beschrieben M O N A C O, W O O D und R U S S E L L, daß bei Homotransplantation die Sensibilisierung bei wiederholter Injektion mit 0,1 se, das entspricht dem Antigenextrakt von 7 mg Milz, einsetzt. In den hier beschriebenen Versuchen betrug die Tagesdosis pro Maus 1,0 se, enthielt also den Antigenextrakt von 70 mg Milz. Die erforderliche Milzmenge berechnete sich in den einzelnen Versuchsserien wie folgt:

Versuch B

Fraktion I: 10 Mäuse

Fraktion II: 10 Mäuse

Fraktion III: 10 Mäuse

Fraktion IV: 10 Mäuse

Bei einer Tagesdosis von 1,0 se, das heißt dem Anti-
genextrakt von 70 mg Milz, und bei insgesamt 28 In-
jektionen pro Maus ergab sich das erforderliche
Milzgewicht zu:

$$70 \text{ mg} \times 10 \times 28 \times 4 = 78,4 \text{ g}$$

Versuch D

Fraktion I: 10 Mäuse

Fraktion IV: 10 Mäuse

Bei einer Tagesdosis von 1,0 se und bei 28 Injektionen
pro Maus wurden

$$70 \text{ mg} \times 10 \times 28 \times 2 = 39,2 \text{ g}$$

Milz benötigt.

Versuch E

Fraktion IV: 10 Mäuse

Fraktion V: 10 Mäuse

Wie bei Versuch D wurden bei 1,0 se Tagesdosis pro
Maus bei 28 Injektionen 39,2 g Milz gebraucht.

Die grob zerkleinerte und abgewogene Milzmenge wurde in den Versuchsreihen B, D und E jeweils unter verschiedenen Bedingungen homogenisiert:

Versuch B

Die Milzbröckel wurden in einem bei 4° C vorgekühlten Mörser gegeben, mit flüssiger Luft übergossen und zu einem feinen Pulver verrieben.

Dieser Milzstaub wurde dann mit 0,25 M sucrose solution⁷⁰ (0,25 M sucrose, 0,05 M Tris buffer, 0,025 M KCl, 0,005 M MgCl₂) auf 30 ml verdünnt und anschließend mit dem Kunststoffhomogenisator von Braun dreimal hintereinander ungefähr 1 - 2 Minuten lang bei hoher Geschwindigkeit homogenisiert. Meßkolben und Meßzylinder waren bei 4° C vorgekühlt worden. Während des Homogenisierens wurde der Meßzylinder, in dem sich das in Zuckerlösung aufgelöste Milzpulver befand, in ein mit Eiswasser gefülltes Becherglas gehalten, um die durch Reibung entstehende Wärme abzufangen. Das so gewonnene rosarot gefärbte Homogenisat wurde dann zur Darstellung der Antigenfraktionen verwendet.

Versuch D und E

Da möglicherweise durch die Behandlung mit flüssiger Luft die Eiweißstrukturen der Antigene verändert wurden, wurde bei diesen beiden Versuchen auf die Anwendung dieser Methode verzichtet. Statt dessen wurden die Milzbröckel nach Zugabe von sucrose solution mit Ultrathurax behandelt. Zweimal 35 Sekunden genügten, um einen feinen Brei herzustellen, der anschließend noch 2 Minuten lang bei hoher Geschwindigkeit mit dem Braun-Homogenisator bearbeitet wurde.

2. Darstellung der Antigenfraktionen

Zur Herstellung verschiedener Antigenfraktionen wurde das Homogenisat in Versuch B auf 4 Fraktionen, in Versuch D und E auf je 2 Fraktionen verteilt und bei verschiedener Umdrehungszahl und somit verschiedener Erdbeschleunigung mit einer Gefrierzentrifuge jeweils 15 Minuten lang zentrifugiert.

Versuch B

Fraktion I:	10000 g	15 Minuten
Fraktion II:	20000 g	15 Minuten
Fraktion III:	25000 g	15 Minuten
Fraktion IV:	30000 g	15 Minuten

Versuch D

Fraktion I:	10000 g	15 Minuten
Fraktion IV:	30000 g	15 Minuten

Versuch E

Fraktion IV:	30000 g	15 Minuten
Fraktion V:	1000 g	15 Minuten

Der Überstand der einzelnen Fraktionen wurde mit einer Rekordspritze abgesaugt und in einem vorher sterilisierten Kolben mit sucrose solution auf 28 ml verdünnt. Diese Menge berechnete sich nach folgenden Überlegungen:

Jede Antigenfraktion sollte an je 10 Mäusen getestet werden. Jede Maus sollte eine Tagesdosis von 1,0 se, das heißt den Antigenextrakt von 70 mg Milz, in 0,1 ml Lösung erhalten. Bei 28 Injektionen

pro Maus wurden also für jede Fraktion insgesamt

$$0,1 \text{ ml} \times 10 \times 28 = 28 \text{ ml}$$

gebraucht.

Diese 28 ml wurden auf 28 sterile Reagenzgläser verteilt, so daß jedes Reagenzglas die Tagesdosis der gesamten Fraktion enthielt. Die Reagenzgläser wurden mit einer Kunststoffolie verschlossen und in einer Gefriertruhe bei -20°C aufbewahrt.

3. Vorbehandlung der Mäuse mit Antigenextrakt

Jede Maus erhielt an 28 aufeinander folgenden Tagen eine intraperitoneale Injektion mit 0,1 ml Antigenlösung, die den Extrakt von 70 mg Milz enthielt. Die Injektionen wurden mit einer Tuberkulinspritze und einer Kanüle Nr. 18 durchgeführt. Die erste Injektion erhielten die Mäuse im Alter von 3 Wochen.

4. Transplantation

In allen Versuchsreihen wurde die Hundehaut unter sterilen Bedingungen abgetragen. Der Hund erhielt ein Muskelrelaxans, wurde intubiert und beatmet, mit Trapanal narkotisiert und erhielt eine Dauer-

tropfinfusion mit 5% Glucose. Nach Abdecken mit sterilen Tüchern wurde das frei gelassene Operationsfeld mit elektrischem Kasierer und anschließend mit Filka so gut wie möglich von Haaren befreit. Nach gründlicher Reinigung der Haut mit Benzin und Äther wurden bei Versuch B und D annähernd ellipsenförmige Transplantate verschiedener Größe mit einem Skalpell herausgeschnitten und sofort in eine mit Ringerlösung gefüllte Petrischale gelegt. Bei Versuch E wurde die Technik insofern verbessert, als die Größe der Transplantate vorher mit einem Stempel auf der Hundehaut markiert wurde.

Die Hundehauttransplantate wurden sorgfältig in Ringerlösung gereinigt, mit einer Schere an den Rändern glatt geschnitten und von Unterhautfettgewebe befreit, so daß die Poren sichtbar wurden. Bis zur Übertragung auf die Mäuse wurde die Hundehaut in steriler Ringerlösung bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Auf dem Rücken der Mäuse wurden die Haare mit Filka entfernt. Zur Narkose kamen die Tiere in einen Holzkasten von ungefähr 20 x 15 x 10 cm Größe, in dem sich ein mit Äther getränkter Wattebausch befand. Durch ein Glasfenster konnte von außen der

Verlauf der Narkose beobachtet werden. Sobald die Tiere genügend Äther inhaliert hatten, wurden sie aus dem Holzkasten herausgenommen und operiert. Während der Operation wurden die Mäuse mit dem Kopf in ein Becherglas mit einem ebenfalls mit Äther getränkten Wattebausch gehalten. Die Mäusehaut wurde mit einer Pinzette leicht angehoben und bei Versuch B und D mit einer Schere ein ellipsenförmiger Defekt herausgeschnitten, dessen Größe sich nach dem jeweils zur Verfügung stehenden Hundehautstück richtete. Bei Versuch E wurde die Größe des Defektes vorher durch einen Stempel festgelegt. Nachdem die Mäusehaut entfernt worden war, wurde mit einer Schere vorsichtig die Muskelfaszie abgetragen.

Die Hundehaut wurde aus der Ringerlösung herausgenommen und in feuchtem Zustand spannungsfrei auf die Mäusemusculatur aufgelegt. Die Befestigung erfolgte unter Verwendung atraumatischen Nahtmaterials (Seide 5,0) mit 8 - 10 Nähten pro Transplantat. Auf lokale antibiotische Behandlung des Operationsfeldes wurde verzichtet.

Nach der Transplantation erhielt jede Maus einen Einzelkäfig. Die Transplantate wurden täglich makroskopisch untersucht und regelmäßig fotografiert.

Sobald sich die Transplantate nach makroskopischen Gesichtspunkten als abgestoßen erwiesen, wurden die Mäuse mit Äther narkotisiert und Transplantat und Transplantatbett mit Schere und Pinzette abgetragen und in Formol gelegt.

Jede Maus erhielt nach Abstoßung des Ersttransplantates ein zweites Hauttransplantat vom gleichen Spender. Die Technik war die gleiche wie die oben geschilderte. Sobald sich auch dieses Zweittransplantat als nekrotisch erwies, wurden die Mäuse mit Äther getötet, Transplantat und Transplantatbett abgetragen, Milz und Leber herausgenommen und in Formol gelegt.

Jedes Präparat wurde in Paraffin eingebettet, geschnitten, H.E. gefärbt und zur histologischen Untersuchung eingeschickt.

E r g e b n i s s e

1. Verträglichkeit der Injektionen

Im allgemeinen wurden die Injektionen gut von den Mäusen vertragen. R U N T - D I S E A S E, gekennzeichnet durch gestäubte Haare, Diarrhoe, Gewichtsverlust und Atrophie wurden nicht beobachtet. Allerdings traten vereinzelt Todesfälle auf, deren Ursache nicht geklärt werden konnte.

2. Schicksal der Transplantate

Die Beurteilung der Überlebenszeit der Transplantate erfolgte nach rein makroskopischen Gesichtspunkten. In den ersten Tagen fühlten sich die Transplantate weich und warm an und behielten ihr natürliches Hautkolorit. Die Nekrose, erkennbar durch schwarzbraune Verfärbung und Hartwerden des Transplantates, setzte im allgemeinen am Rand ein und breitete sich innerhalb weniger Tage zur Mitte hin aus. Wenn das gesamte Transplantat hart und verfärbt war, wurde es als nekrotisch und abgestoßen bezeichnet. Die in diesem Stadium abgetragenen Transplantate hatten jedoch in den meisten Fällen noch enge

Verbindung mit dem Wirtslager. Häufig erwies sich die Nekrose als oberflächlich, die tieferen Transplantatschichten waren noch weich und fest mit der Unterlage verwachsen. Im weiteren Verlauf schrumpften die Transplantate, sofern sie über dieses Stadium hinaus belassen wurden, auf einen Bruchteil ihrer ursprünglichen Größe zusammen und verloren jeglichen Kontakt zum Transplantationsbett.

Die Transplantationsergebnisse erwiesen sich von zahlreichen äußeren Faktoren abhängig. Bei der in diesen Versuchen angewendeten Methodik ließ es sich leider nicht vermeiden, daß einige Transplantate bevor sie überhaupt angingen, durch rein mechanische Momente, bedingt durch die Beweglichkeit der Mäuse und die dadurch verursachte Spannung und Zerrung, verloren gingen.

Ein sehr wesentlicher Faktor bei der Haltbarkeit der Transplantate liegt in der Art der Fixation im Wirtslager. Bei den hier beschriebenen Transplantationen wurde ein Optimum durch Befestigung der Transplantate mit 8 - 10 Nähten erreicht. Weniger als 5 - 6 Nähte genügten der mechanischen Beanspruchung nicht. Die Transplantate wurden sofort abgestoßen. Waren die Knoten zu locker geknüpft, rissen die

Transplantate an den betreffenden Stellen ab,
hoben sich von der Unterlage und wurden rasch
nekrotisch.

3. Abbildungen

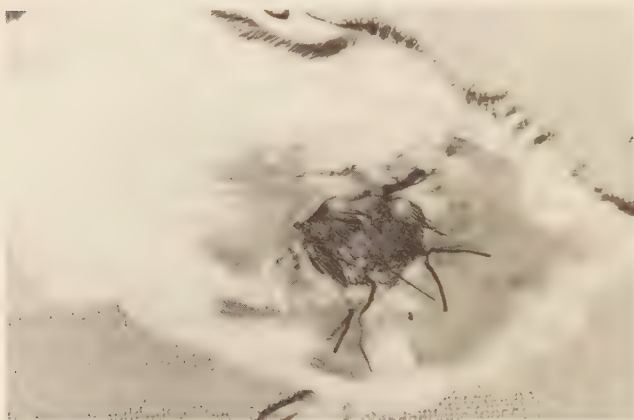
Aus der Vielzahl der fotografierten Transplantate
wurde von jeder Versuchsreihe für jede Fraktion
sowohl für first set als auch für second set ein
Beispiel herausgesucht.

Versuch B

Fraktion I

Maus 5

Ersttransplantat: Überlebenszeit 9 Tage



1 Tag nach Transplantation



7 Tage nach Transplantation

Versuch B

Fraktion I Maus 5

Ersttransplantat: Überlebenszeit 9 Tage

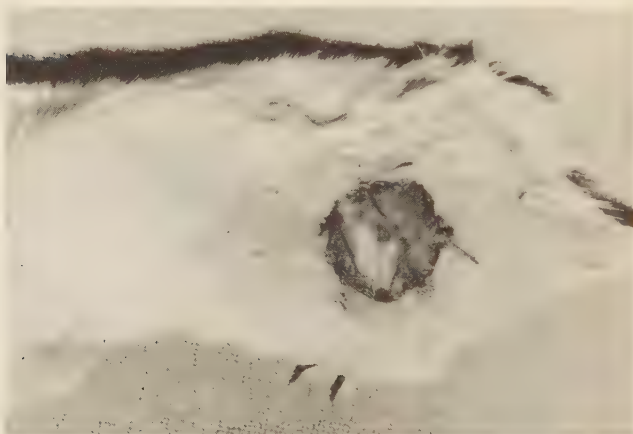


9 Tage nach Transplantation

Versuch B

Fraktion I Maus 5

Zweittransplantat: Überlebenszeit 7 Tage



1 Tag nach Transplantation

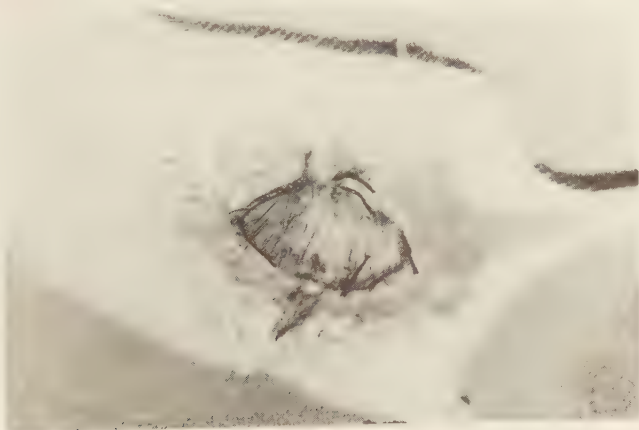


5 Tage nach Transplantation

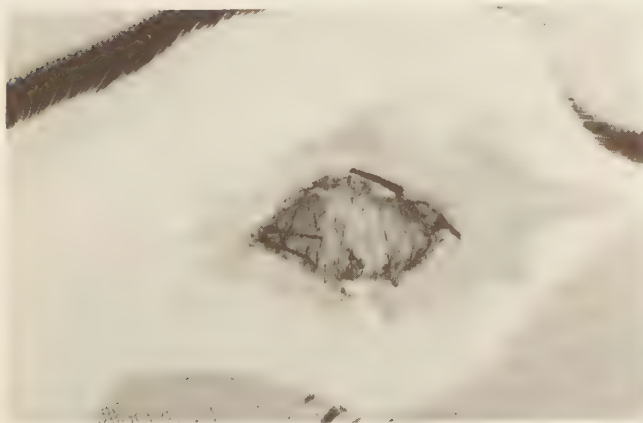
Versuch B

Fraktion II Maus 9

Ersttransplantat: Überlebenszeit 9 Tage



1 Tag nach Transplantation



6 Tage nach Transplantation

Versuch B

Fraktion II Maus 9

Ersttransplantat: Überlebenszeit 9 Tage

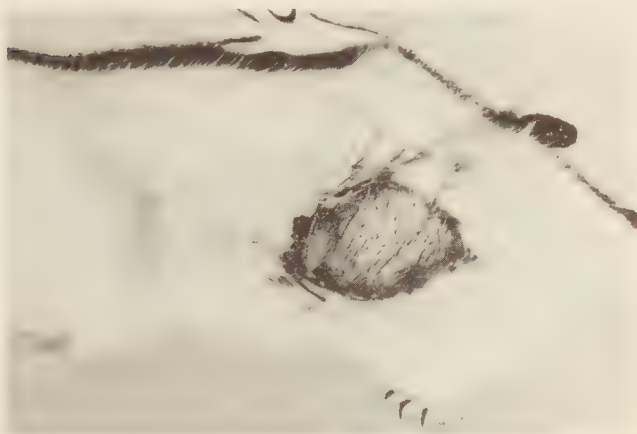


8 Tage nach Transplantation

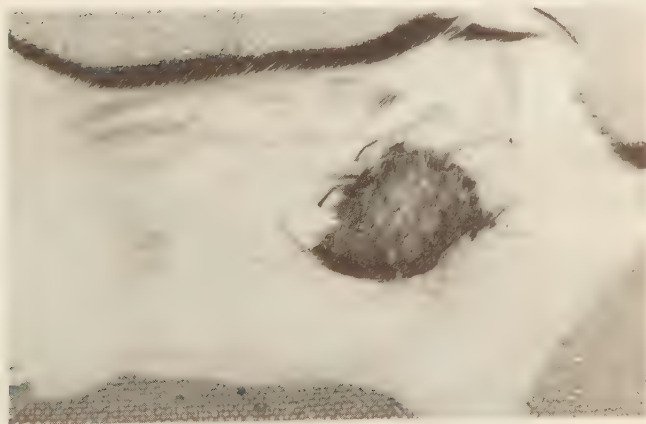
Versuch B

Fraktion II Maus 10

Zweittransplantat: Überlebenszeit 10 Tage



1 Tag nach Transplantation

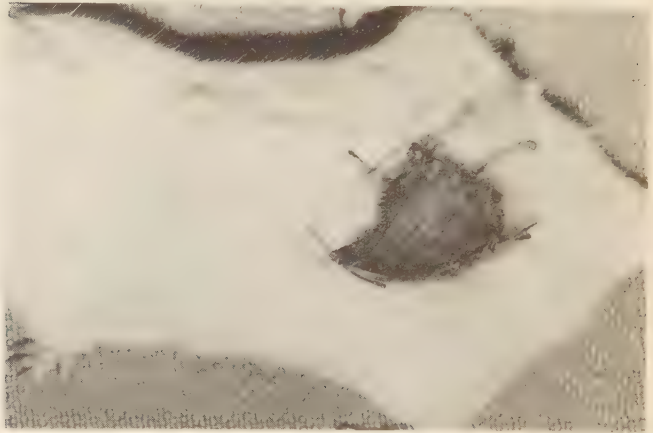


5 Tage nach Transplantation

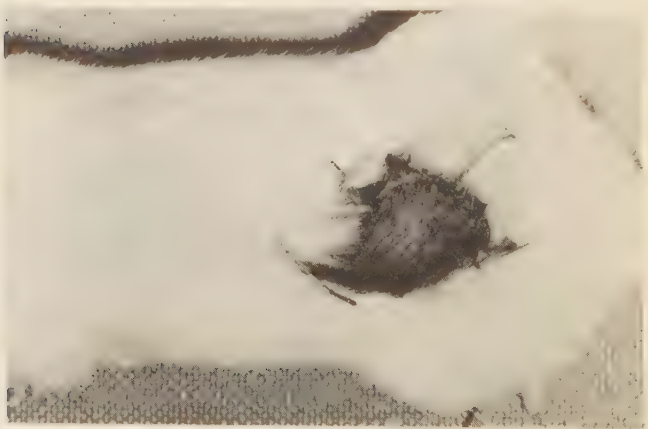
Versuch B

Fraktion II Maus 10

Zweittransplantat: Überlebenszeit 10 Tage



7 Tage nach Transplantation



9 Tage nach Transplantation

Versuch B

Fraktion III

Maus 2

Ersttransplantat: Überlebenszeit 10 Tage



1 Tag nach Transplantation

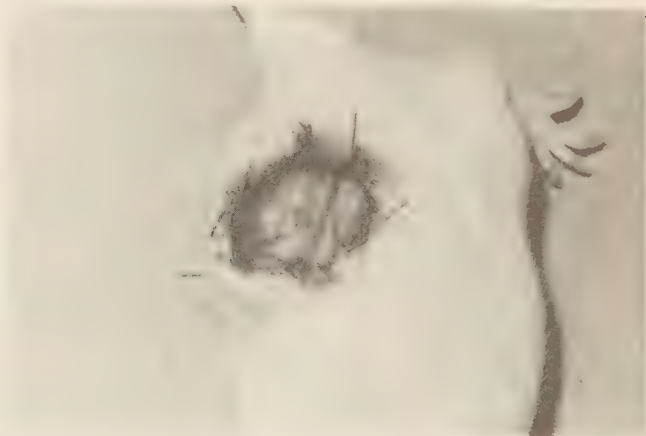


6 Tage nach Transplantation

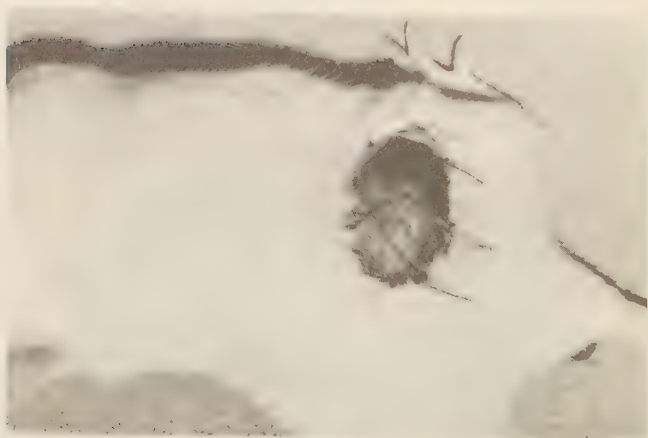
Versuch B

Fraktion III Maus 2

Zweittransplantat: Überlebenszeit 7 Tage



1 Tag nach Transplantation



5 Tage nach Transplantation

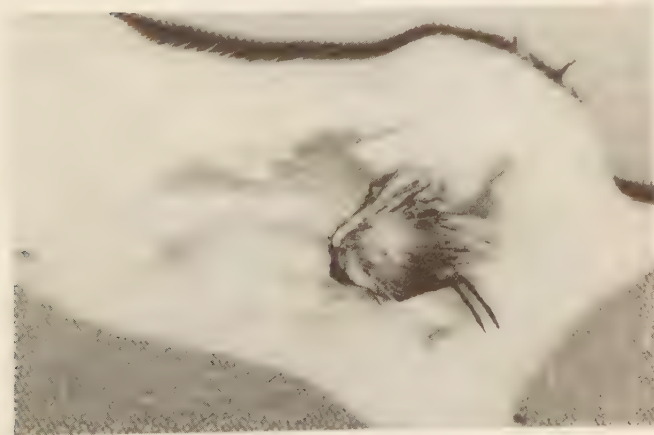
Versuch B

Fraktion IV Maus 10

Ersttransplantat: Überlebenszeit 11 Tage



1 Tag nach Transplantation

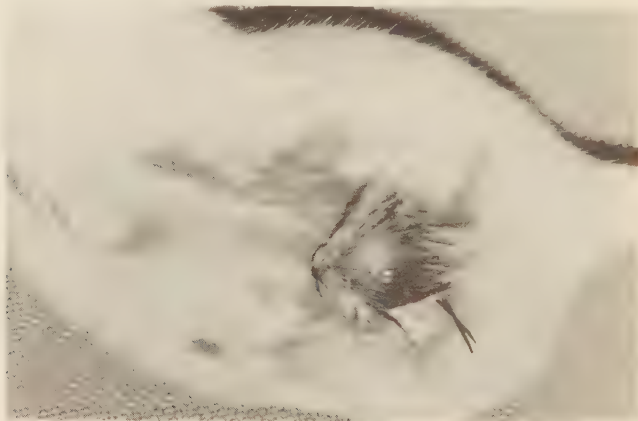


6 Tage nach Transplantation

Versuch B

Fraktion IV Maus 10

Ersttransplantat: Überlebenszeit 11 Tage

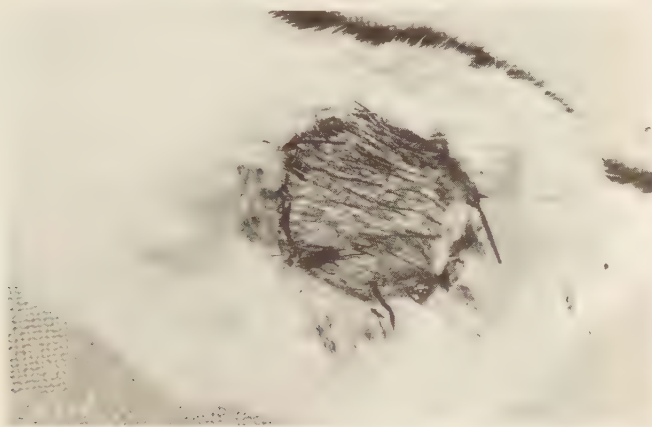


8 Tage nach Transplantation

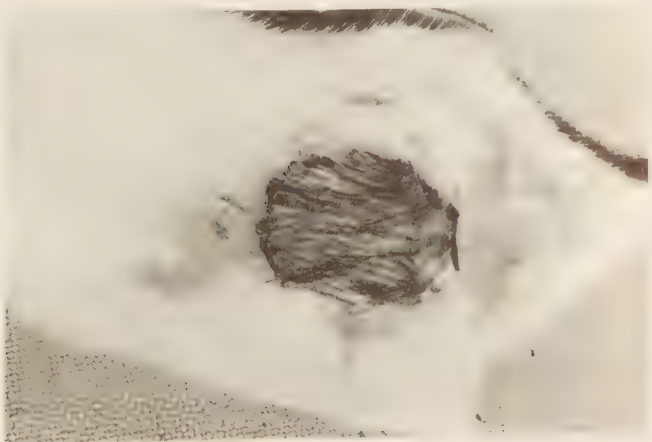
Versuch B

Fraktion IV Maus 4

Zweittransplantat: Überlebenszeit 12 Tage



1 Tag nach Transplantation

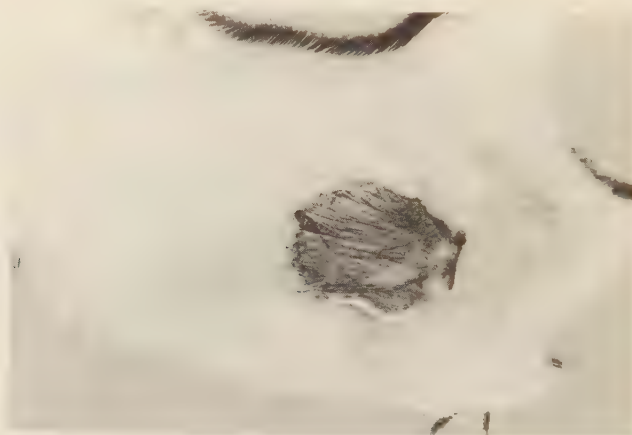


4 Tage nach Transplantation

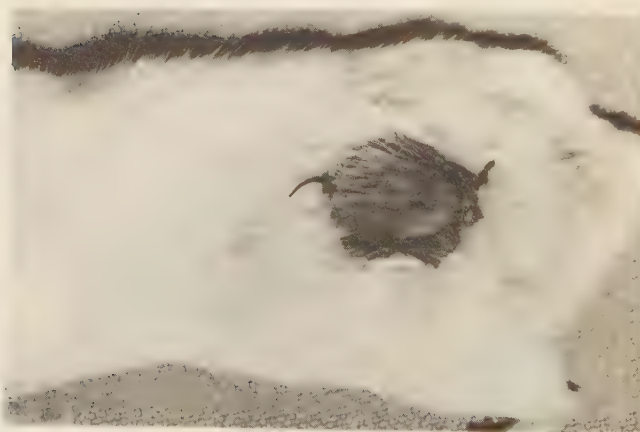
Versuch B

Fraktion IV Maus 4

Zweittransplantat: Überlebenszeit 12 Tage



7 Tage nach Transplantation



11 Tage nach Transplantation

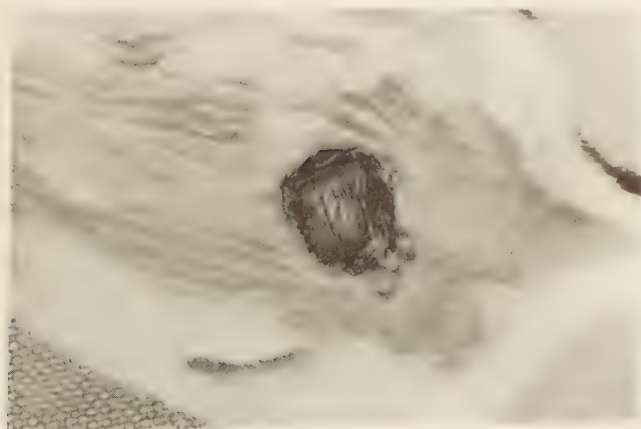
Versuch D

Fraktion I Maus 6

Ersttransplantat: Überlebenszeit 12 Tage



1 Tag nach Transplantation

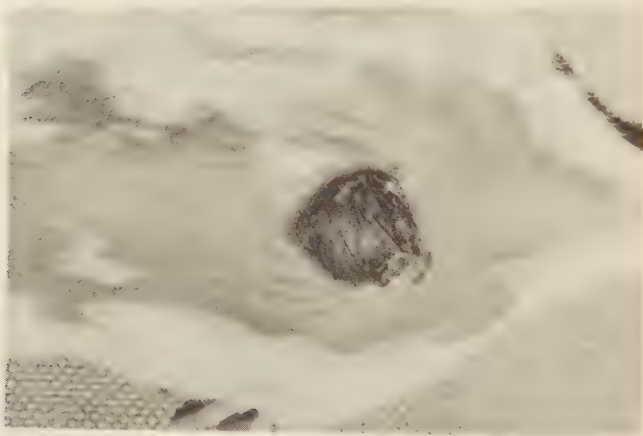


6 Tage nach Transplantation

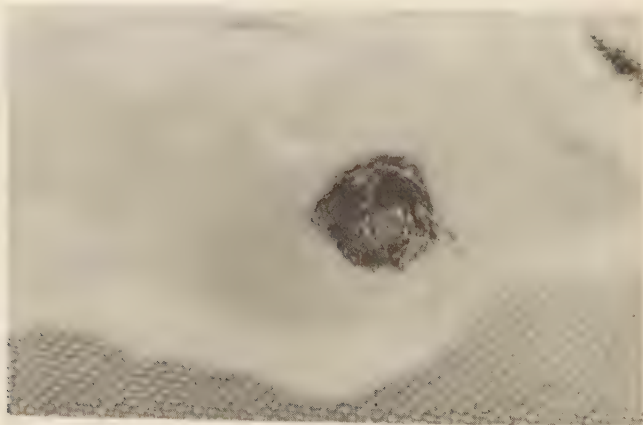
Versuch D

Fraktion I Maus 6

Ersttransplantat: Überlebenszeit 12 Tage



8 Tage nach Transplantation

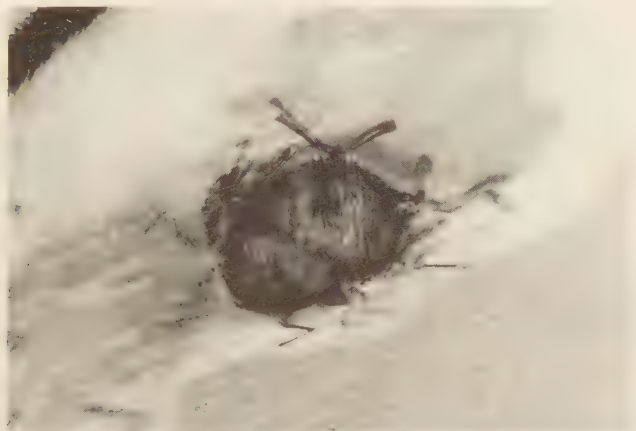


12 Tage nach Transplantation

Versuch D

Fraktion I Maus 5

Zweittransplantat: Überlebenszeit 8 Tage



2 Tage nach Transplantation

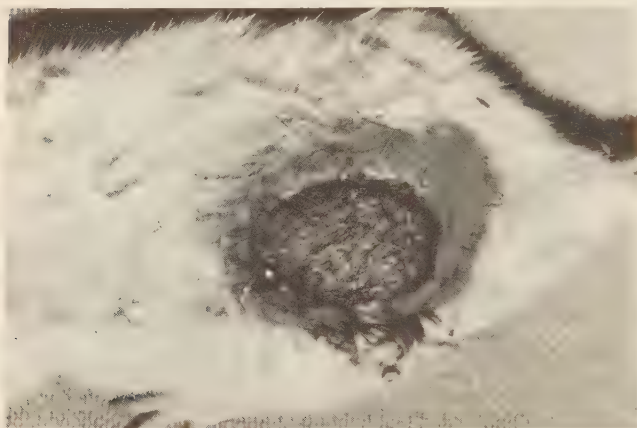


6 Tage nach Transplantation

Versuch D

Fraktion IV Maus 7

Ersttransplantat: Überlebenszeit 11 Tage



1 Tag nach Transplantation



6 Tage nach Transplantation

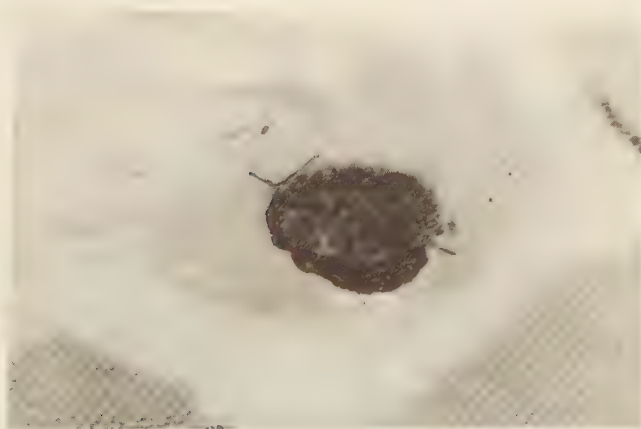
Versuch D

Fraktion IV Maus 7

Ersttransplantat: Überlebenszeit 11 Tage



8 Tage nach Transplantation

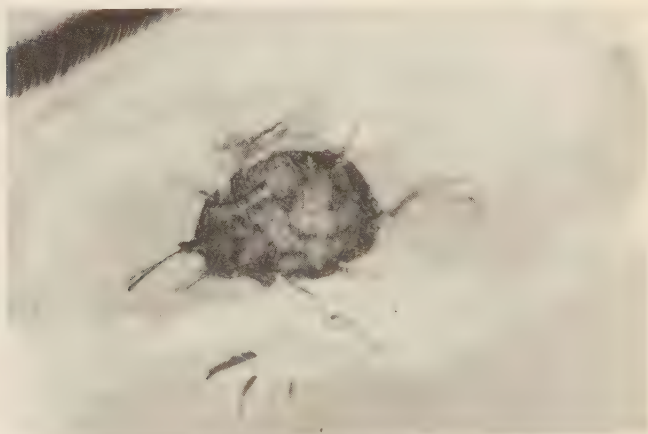


11 Tage nach Transplantation

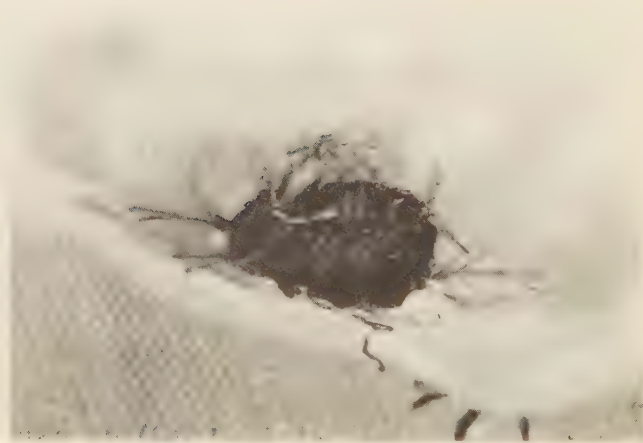
Versuch D

Fraktion IV Maus 9

Zweittransplantat: Überlebenszeit 10 Tage



2 Tage nach Transplantation

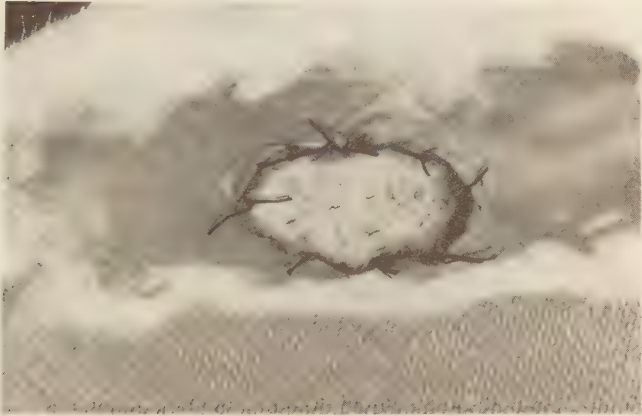


6 Tage nach Transplantation

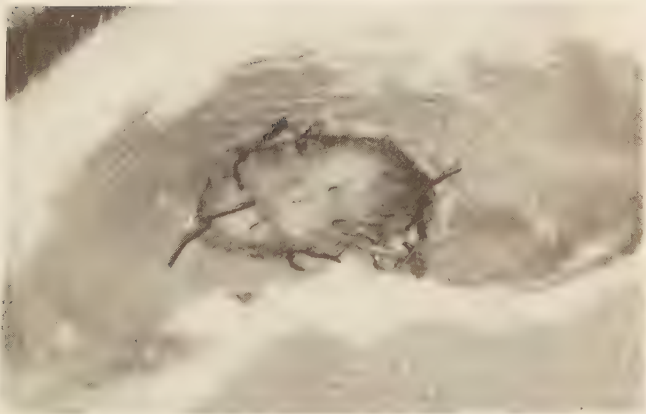
Versuch E

Fraktion IV Maus 4

Ersttransplantat: Überlebenszeit 11 Tage



2 Tage nach Transplantation

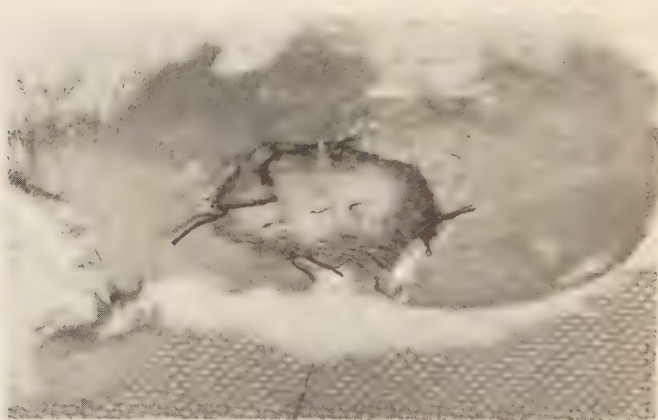


7 Tage nach Transplantation

Versuch E

Fraktion IV Maus 4

Ersttransplantat: Überlebenszeit 11 Tage



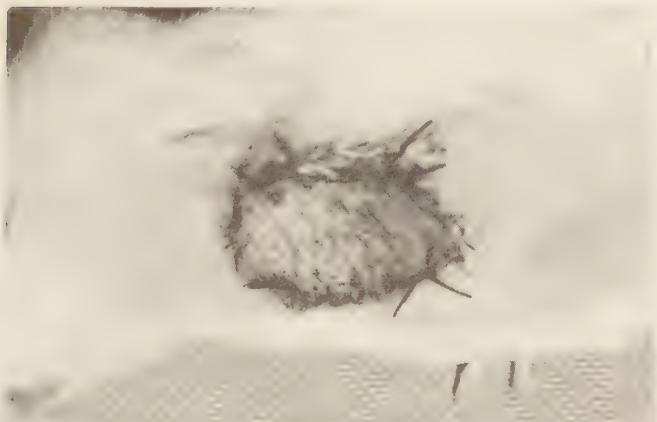
9 Tage nach Transplantation

Versuch E

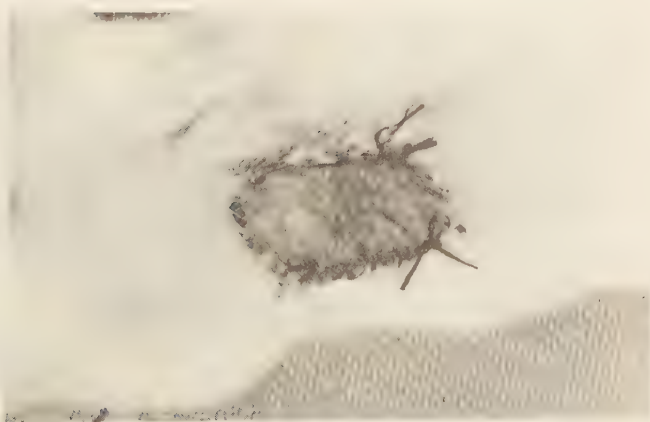
Fraktion IV

Maus 9

Zweittransplantat: Überlebenszeit 9 Tage



4 Tage nach Transplantation

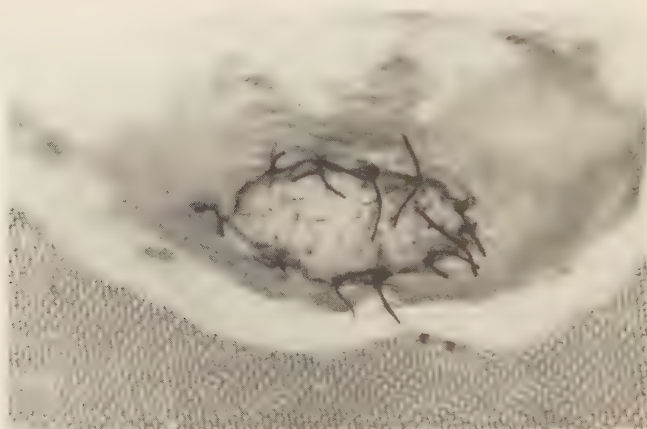


9 Tage nach Transplantation

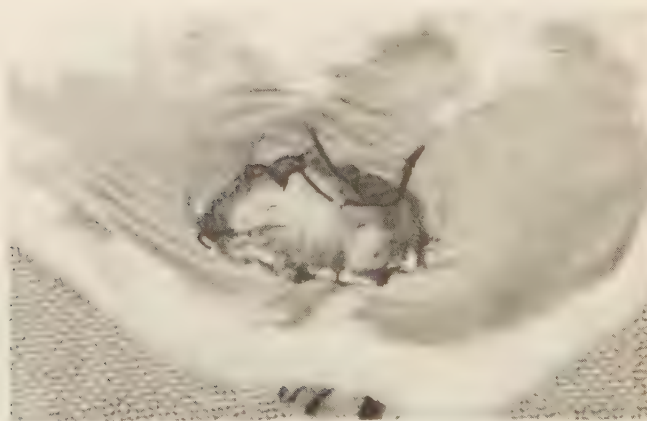
Versuch E

Fraktion V Maus 2

Ersttransplantat: Überlebenszeit 9 Tage



2 Tage nach Transplantation

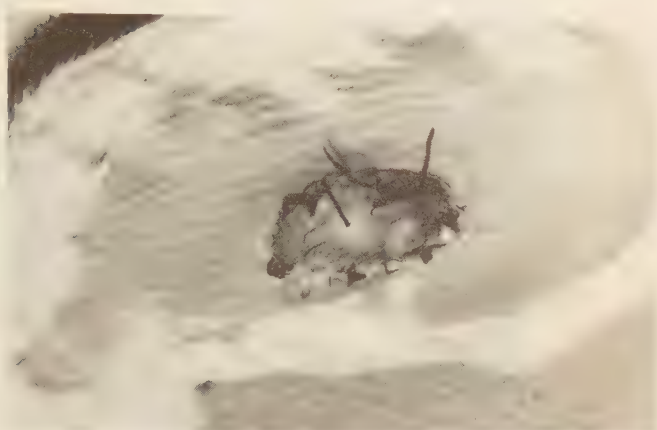


7 Tage nach Transplantation

Versuch E

Fraktion V Maus 2

Ersttransplantat: Überlebenszeit 9 Tage

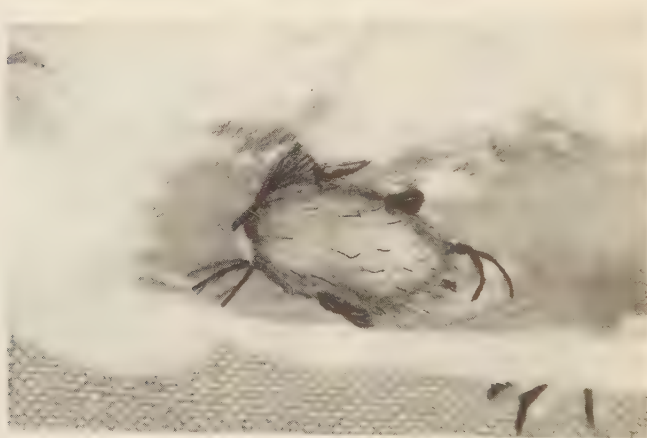


9 Tage nach Transplantation

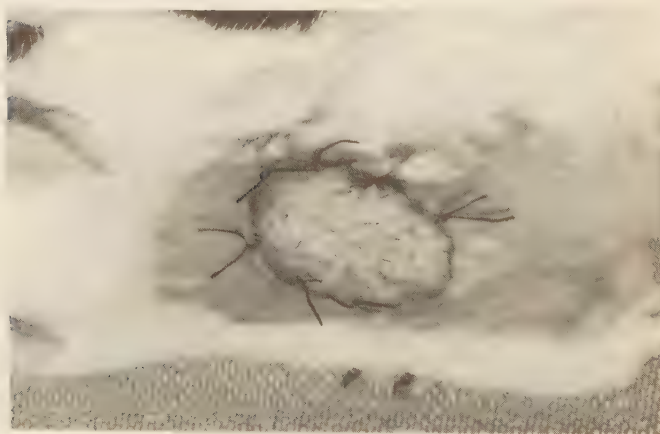
Versuch E

Fraktion V Maus 4

Zweittransplantat: Überlebenszeit 9 Tage



5 Tage nach Transplantation



7 Tage nach Transplantation

4. Überlebenszeiten

In den abgebildeten Tabellen stellen die schwarzen Säulen die Überlebenszeit der Ersttransplantate, die weißen Säulen die der Zweittransplantate dar. Bei der Berechnung der Mittelwerte wurden bei den gespritzten Fraktionen Überlebenszeiten unter 5 Tagen nicht berücksichtigt (Erklärung in der Diskussion).

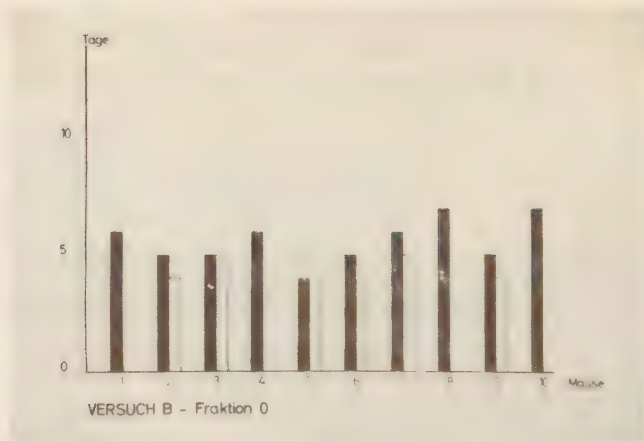
Versuch B

a) Fraktion 0

10 erwachsene weibliche Mäuse vom Inzuchtstamm NMRJ erhielten ohne Vorbehandlung ein Hauttransplantat vom weiblichen erwachsenen Hund B. Nach Abstoßung des Ersttransplantates wurde ein Zweittransplantat vom gleichen Spender übertragen.

Die Ersttransplantate hielten zwischen 5 und 7 Tagen. Der Mittelwert lag bei 5,6 Tagen.

Maus 1, 4, 8 und 10 wurden nach Abstoßung des first set seziert. Bei den anderen hielten die Zweittransplantate 4 - 5 Tage, der Mittelwert lag bei 4,3 Tagen. In 4 Fällen wurde das Zweittransplantat beschleunigt abgestoßen, in 2 Fällen hielt es ebenso lange wie das Ersttransplantat.



b) Fraktion I, II, III, IV

Jede Fraktion wurde an je 10 Mäusen getestet.

Jede Maus erhielt an 28 aufeinanderfolgenden Tagen eine intraperitoneale Injektion mit der Tagesdosis 1,0 se, das entspricht dem Antigenextrakt von 70 mg B - Hundemilz. Fraktion I enthielt den Überstand von 10000 g, Fraktion II den von 20000 g, Fraktion III den von 25000 g und Fraktion IV den Überstand von 30000 g. 3 Tage nach der letzten Injektion erhielt jede gespritzte Maus ein Hauttransplantat vom Hund B und nach Abstoßung desselben

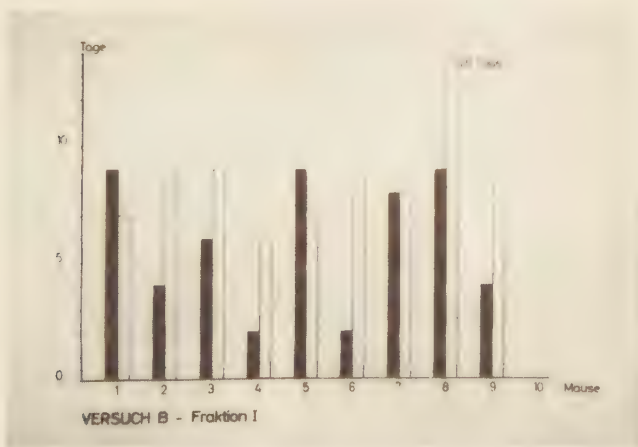
ein Zweittransplantat vom gleichen Spender.

Fraktion I

Maus 10 war beim Spritzen gestorben.

Die Ersttransplantate von Maus 2, 4, 6 und 9 hielten weniger als 5 Tage. Bei den übrigen Ersttransplantaten lag die Überlebenszeit zwischen 6 und 9 Tagen. Der Mittelwert ergab ohne Berücksichtigung der unter der 5-Tage-Grenze liegenden Werte 8,2 Tage.

Die Zweittransplantate hielten 6 - 9 Tage. Der Mittelwert errechnete sich zu 8 Tagen. Die hohe Überlebenszeit des Zweittransplantates von Maus 8 (26 Tage) wurde bei Berechnung des Mittelwertes nicht einbezogen.



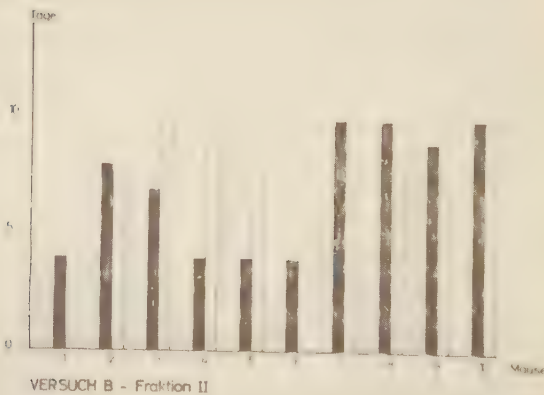
Fraktion II

40% der Ersttransplantate erreichten die 5-Tage-Grenze nicht, bei den restlichen 60% lag die Überlebenszeit zwischen 8 und 10 Tagen. Die mittlere Überlebenszeit betrug 9 Tage.

Maus 1 und 6 wurden nach Abstoßung des Ersttransplantates seziiert.

Die Überlebenszeit der Zweittransplantate schwankte zwischen 7 und 10 Tagen. Der Mittelwert lag bei 8,5 Tagen.

Maus 3 und 4 sowie 5 zeigten verlängerte Überlebenszeiten bei den Zweittransplantaten, Maus 10 hielt Erst- und Zweittransplantat gleich lange, bei den übrigen wurden die second sets beschleunigt abgestoßen.



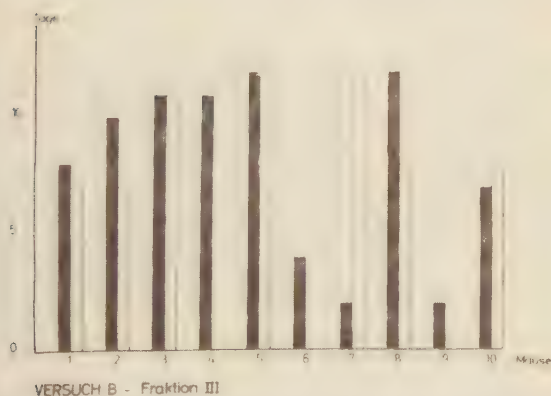
Fraktion III

Bei Maus 6, 7 und 9 waren die Ersttransplantate bereits nach 2 bzw. 4 Tagen abgegangen. Die übrigen hielten 8 - 12 Tage, im Mittel 10,1 Tage.

Maus 4, 6 und 9 wurden nach Abstoßung des first set seziiert.

Die Zweittransplantate hielten zwischen 7 und 12 Tagen, durchschnittlich 9,1 Tage.

Maus 3 und 5 zeigten für Erst- und Zweittransplantat gleiche Überlebenszeiten, bei Maus 10 hielt der second set länger als der first set, die übrigen Zweittransplantate wurden schneller abgestoßen als die Ersttransplantate.

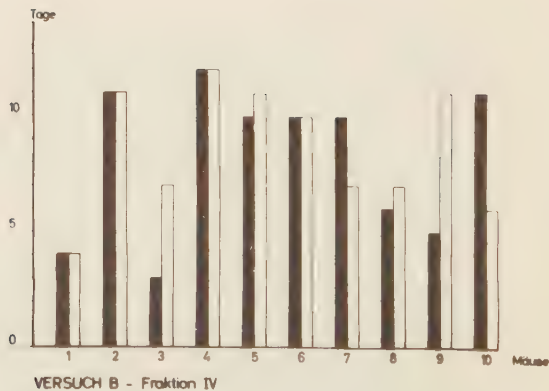


Fraktion IV

30% der Ersttransplantate hielten weniger als 5 Tage, 60% überlebten 10 - 12 Tage. Der Mittelwert errechnete sich zu 10,1 Tagen.

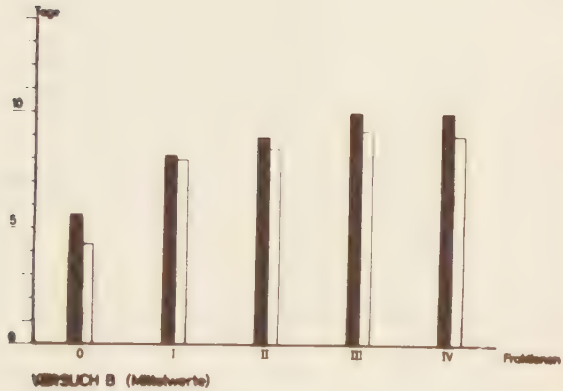
Bei den Zweittransplantaten schwankte die Überlebensdauer zwischen 7 und 12 Tagen, der Mittelwert ergab 9,1 Tage.

Die Zweittransplantate hielten zum Teil länger, zum Teil gleich lange wie die Ersttransplantate, einige wurden beschleunigt abgestoßen.



c) Vergleich der Mittelwerte der O-Fraktion

mit den gespritzten Fraktionen I, II, III, IV



In der oben abgebildeten graphischen Darstellung stellen die schwarzen Säulen die Mittelwerte der Überlebenszeiten der Ersttransplantate der betreffenden Fraktion dar, die weißen Säulen die der Zweittransplantate der gleichen Fraktion.

Die Verlängerung der mittleren Überlebenszeit der Ersttransplantate beträgt im Verhältnis zur unvorbehandelten Kontrollserie für

Fraktion I: 2,6 Tage

Fraktion II: 3,4 Tage

Fraktion III: 4,5 Tage

Fraktion IV: 4,5 Tage

Die Verlängerung der mittleren Überlebenszeit der Zweittransplantate beträgt bei den gespritzten Fraktionen verglichen mit der Überlebenszeit der Zweittransplantate der unvorbehandelten Kontrollserie für

Fraktion I: 3,7 Tage

Fraktion II: 4,2 Tage

Fraktion III: 5,0 Tage

Fraktion IV: 4,8 Tage

Die Mittelwerte der Überlebenszeiten der Fraktion III und IV unterscheiden sich kaum, Fraktion II und besonders Fraktion I weisen sichtlich schlechtere Ergebnisse auf.

In allen Fraktionen wurden die Zweittransplantate insgesamt gesehen beschleunigt abgestoßen.

d) Vergleich der Signifikanzwerte

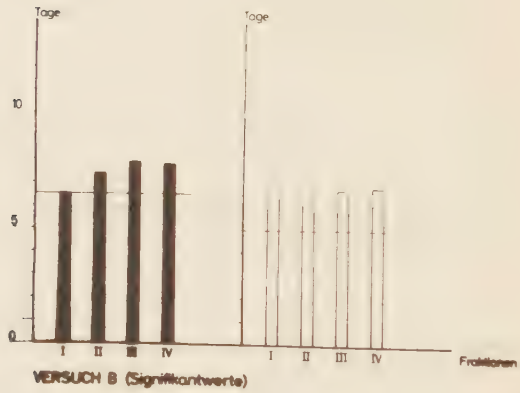
Die für die einzelnen Fraktionen von B gefundenen Signifikanzwerte sind aus der unten abgebildeten Tabelle sowohl für first als auch second set ersichtlich.

Fraktion	first set	second set
0	$5,6 \pm 0,9$	$4,3 \pm 0,65$
I	$8,2 \pm 1,7$	$8,0 \pm 1,3$
II	$9,0 \pm 1,6$	$8,5 \pm 1,3$
III	$10,1 \pm 2,2$	$9,3 \pm 2,6$
IV	$10,1 \pm 2,3$	$9,1 \pm 2,3$

Die graphische Darstellung zeigt einen Vergleich der obersten Signifikanzgrenze der unvorbehandelten Kontrollfraktion mit der untersten Signifikanzgrenze der gespritzten Fraktionen. (First set = schwarze Säule, second set = weiße Säule). Die Waagrechte gibt jeweils die oberste Signifikanzgrenze der Fraktion 0 an.

Fraktion I unterscheidet sich hinsichtlich der Ersttransplantate nur bedingt signifikant von der

Fraktion 0, alle anderen Fraktionen zeigen deutlich
signifikant verschiedene Werte vom 0 Versuch.



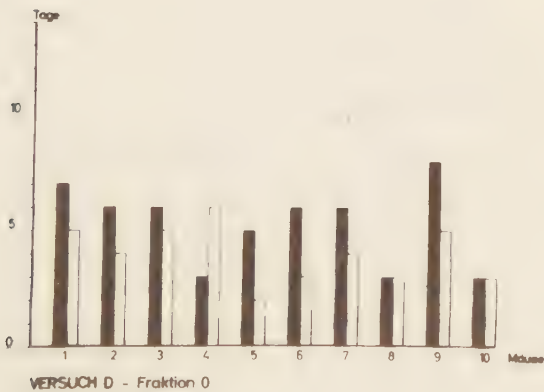
Versuch D

a) Fraktion 0

10 weibliche Mäuse vom Inzuchtstamm NMRJ erhielten ohne Vorbehandlung ein Hauttransplantat vom erwachsenen weiblichen Bastardhund D und nach Abstoßung dieses Ersttransplantates ein Zweittransplantat vom gleichen Spender.

Die Ersttransplantate hielten 5 - 6 Tage, im Mittel 6,3 Tage.

Die Überlebenszeit der Zweittransplantate schwankte zwischen 2 und 6 Tagen. Als Mittelwert wurde 4,8 Tage errechnet.

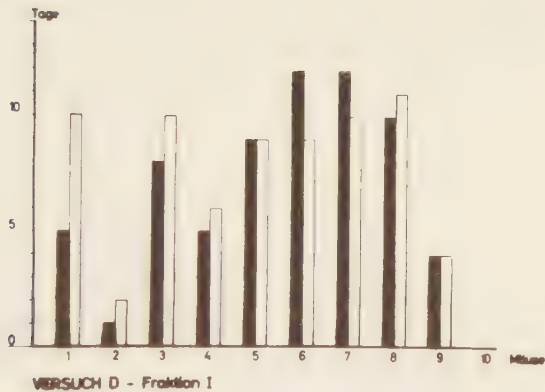


b) Fraktion I und IV

Jede Fraktion wurde an je 10 Mäusen getestet.
Jede Maus erhielt an 28 aufeinanderfolgenden Tagen eine intraperitoneale Injektion mit der Tagesdosis 1,0 se entsprechend dem Antigenextrakt aus 70 mg D - Hundemilz. Fraktion I enthielt den Überstand von 10000 g, Fraktion IV den Überstand von 30000 g. Alle Mäuse erhielten nach Abstoßung des Ersttransplantates ein Zweittransplantat vom gleichen Spender.

Fraktion I

Maus 10 war während des Spritzens gestorben.
Die Ersttransplantate hielten zwischen 4 und 12 Tage, 55% zeigten eine Überlebensdauer von 8 - 12 Tagen, 22% überlebten weniger als 5 Tage. Der Mittelwert lag bei 10,2 Tagen.
Die Zweittransplantate wurden nur in 22% der Fälle beschleunigt abgestoßen. 55% hielten länger als das Ersttransplantat, 22% hielten gleich lange.
Die Streubreite der Einzelwerte schwankte bei den Zweittransplantaten zwischen 4 und 11 Tagen, 66% hielten zwischen 9 und 11 Tagen. Als Mittelwert wurde 9,3 Tage gefunden.
Die graphische Darstellung der Ergebnisse der Fraktion I s. Seite 77.



Fraktion IV

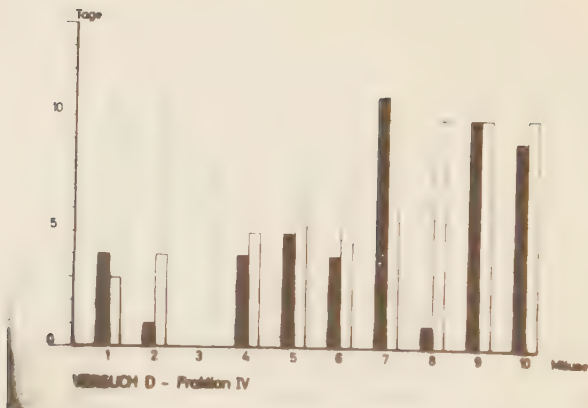
Maus 3 war während des Spritzens gestorben.

Bei den als angegangen gewerteten Ersttransplantaten lag die Überlebenszeit zwischen 9 und 11 Tagen.

Der Mittelwert berechnete sich daraus zu 10 Tagen.

Von den angegangenen Zweittransplantaten hielten 4 Transplantate 10 Tage, 1 Transplantat 8 Tage und eins 7 Tage. Der Mittelwert ergab 9,2 Tage.

Die Zweittransplantate wurden zum Teil beschleunigt abgestoßen, zum Teil hielten sie gleich lange, in einigen Fällen sogar länger als der first set.



c) Vergleich der Mittelwerte der O-Fraktion
mit den gespritzten Fraktionen I und IV

Die Verlängerung der mittleren Überlebenszeit der Ersttransplantate beträgt für die gespritzten Fraktionen I und IV verglichen mit der unvorbehandelten Kontrollserie O für

Fraktion I: 3,9 Tage

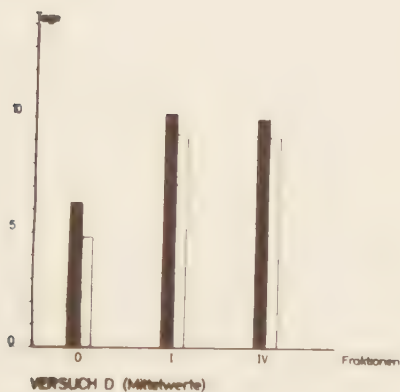
Fraktion IV: 3,7 Tage

Die Verlängerung der mittleren Überlebenszeit
der Zweittransplantate der gespritzten Fraktionen
beträgt verglichen mit der Überlebenszeit der Zweit-
transplantate der unvorbehandelten Kontrollserie 0
für

Fraktion I: 4,5 Tage

Fraktion IV: 4,4 Tage

Zwischen Fraktion I und IV konnten keine Unterschiede
festgestellt werden.



d) Vergleich der Signifikanzwerte

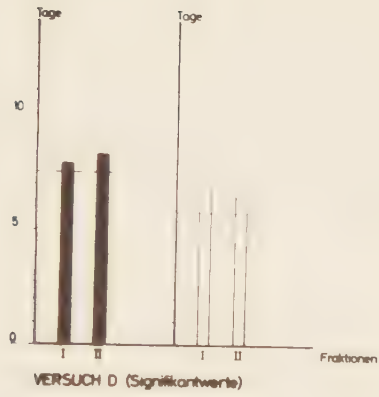
Die für die einzelnen Fraktionen von D gefundenen Signifikanzwerte sind in der unten abgebildeten Tabelle enthalten.

Fraktion	first set	second set
0	$6,3 \pm 1,1$	$4,8 \pm 0,9$
I	$10,2 \pm 2,4$	$9,3 \pm 1,8$
IV	$10,0 \pm 1,8$	$9,2 \pm 1,5$

Die graphische Darstellung zeigt einen Vergleich der obersten Signifikanzgrenze der Fraktion 0 mit der untersten Signifikanzgrenze der gespritzten Fraktionen. (First set = schwarze Säule, second set = weiße Säule). Die Waagrechte gibt jeweils die oberste Signifikanzgrenze der Fraktion 0 an.

Aus der Abbildung geht hervor, daß sich alle gespritzten Fraktionen sowohl in Bezug auf Erst- als auch Zweittransplantate signifikant von der unvorbehandelten Kontrollserie unterscheiden.

(Graphische Darstellung s. Seite 81)



Versuch E

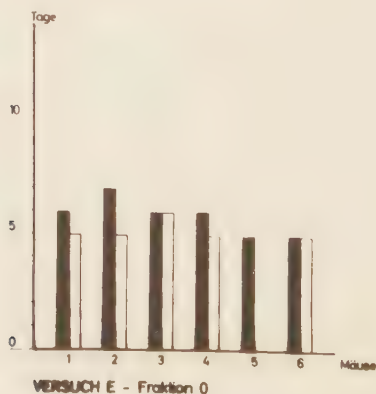
a) Fraktion 0

6 weibliche erwachsene Mäuse vom Stamm NMRJ erhielten ohne vorherige Antigeninjektion ein Hauttransplantat vom Hund E und nach Abstoßung desselben ein zweites Transplantat vom gleichen Spender.

Die Ersttransplantate hielten zwischen 5 und 7 Tage, der Mittelwert lag bei 5,8 Tagen.

Maus 5 wurde nach Abstoßung des first set seziiert.

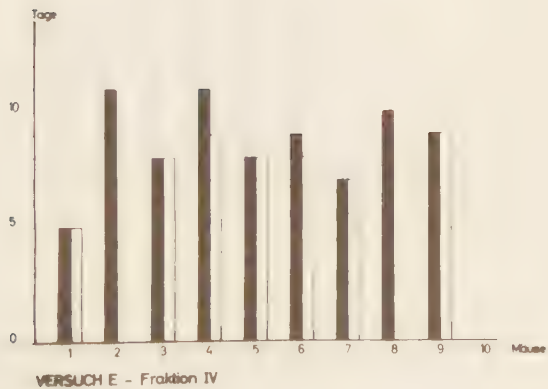
Die Zweittransplantate wurden im allgemeinen beschleunigt abgestoßen. Ihre Überlebenszeit lag bei 5 - 6 Tagen. Der Mittelwert berechnete sich zu 5,2 Tagen.



b) Fraktion IV und V

Jede Fraktion wurde an 10 Mäusen untersucht. Jede Maus erhielt 28 intraperitoneale Injektionen mit der Tagesdosis 1,0 se, die den Antigenextrakt aus 70 mg E-Hundemilz enthielt. Fraktion IV enthielt den Überstand von 30000 g, Fraktion V den von 1000 g. 3 Tage nach der letzten Injektion erhielt jede Maus ein Hauttransplantat vom Hund E und nachdem dieses abgestoßen war, ein zweites vom gleichen Hund.

Fraktion IV

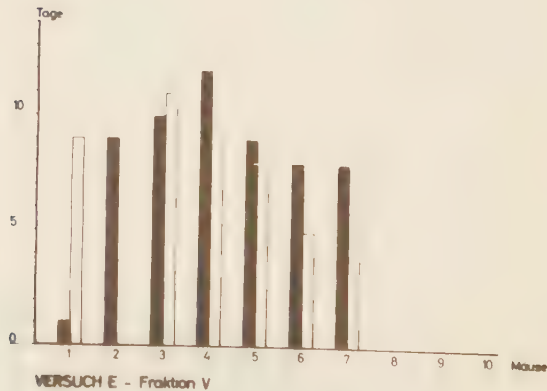


Maus 10 war während der Vorbehandlung mit Antigen-extrakt gestorben.

Der first set hielt in 88% der Fälle zwischen 8 und 11 Tage, der Mittelwert lag bei 9,1 Tagen.

Die Zweittransplantate hielten entweder gleich lange oder wurden beschleunigt abgestoßen. Ihre Überlebenszeit lag zwischen 7 und 9 Tagen, im Mittel bei 8,2 Tagen.

Fraktion V



Maus 8, 9 und 10 war während der Vorbehandlung gestorben.

Die Ersttransplantate erreichten bis auf eine Aus-

nahme Überlebenszeiten von 8 - 12 Tagen. Die durchschnittliche Überlebenszeit betrug 9,3 Tage. Die Zweittransplantate wurden meistens beschleunigt abgestoßen. Maus 2 war nach dem first set seziert worden. Die Überlebenszeit der Zweittransplantate der übrigen Mäuse schwankte zwischen 9 und 11 Tagen. Der Mittelwert berechnete sich zu 9 Tagen.

c) Vergleich der Mittelwerte der O-Fraktion
mit den gespritzten Fraktionen IV und V

Die Verlängerung der mittleren Überlebenszeit der Ersttransplantate beträgt verglichen mit der Überlebenszeit der Kontrollserie O für

Fraktion IV: 3,3 Tage

Fraktion V: 3,5 Tage

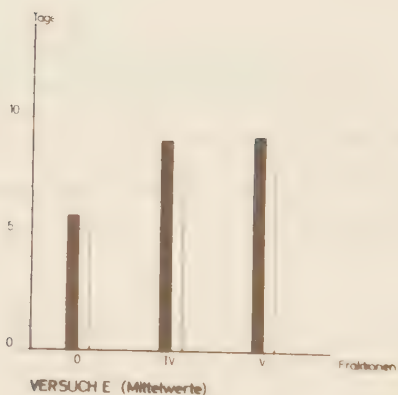
Die Verlängerung der mittleren Überlebenszeit der Zweittransplantate der gespritzten Fraktionen IV und V beträgt im Vergleich zur unvorbehandelten Fraktion O für

Fraktion IV: 3,0 Tage

Fraktion V: 3,8 Tage

Die graphische Darstellung verdeutlicht, daß

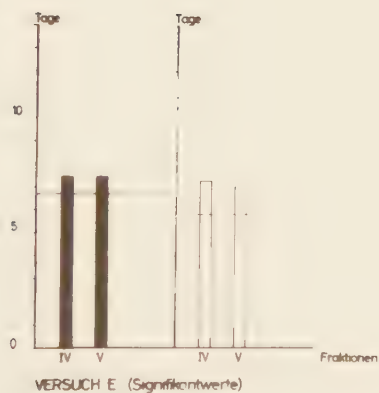
zwischen Fraktion IV und V keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Haltbarkeit der Transplantate erzielt wurden.



d) Vergleich der Signifikanzwerte

Die auf Seite 87 aufgezeichnete Tabelle gibt die für die einzelnen Fraktionen von Versuch E errechneten Signifikanzwerte für Erst- und Zweittransplantate an.

Fraktion	first set	second set
0	5,8 $\pm$ 0,9	5,2 $\pm$ 0,6
IV	9,1 $\pm$ 1,6	8,2 $\pm$ 0,9
V	9,3 $\pm$ 1,8	9,0 $\pm$ 1,8



Die graphische Darstellung zeigt einen Vergleich der obersten Signifikanzgrenze der Serie 0 mit der untersten Signifikanzgrenze der gespritzten Fraktionen. (First set = schwarze Säule, second set = weiße Säule).

Die Waagrechte gibt die oberste Signifikanzgrenze der 0 Versuche an.

Man erkennt deutlich, daß sich alle Fraktionen, die einer Vorbehandlung mit Antigenextrakt der Spendermilz unterzogen worden waren, sowohl in Bezug auf die Erst- als auch Zweittransplantate in ihrer Überlebensdauer signifikant von den unvorbehandelten Kontrollversuchen unterscheiden.

Vergleich der Versuche B, D und E

a) Vergleich der Mittelwerte der O Versuche

Versuch	first set	second set
B	5,6	4,3
D	6,3	4,8
E	5,8	5,2

Aus den in der Tabelle aufgezeichneten Mittelwerten der Fraktion O der Versuche B, D und E errechnet sich der Mittelwert der Mittelwerte aller O Versuche für first set zu 5,9 Tagen und second set zu 4,7 Tagen.

b) Vergleich der Mittelwerte aller gespritzten

Fraktionen

Der Mittelwert der Mittelwerte aller gespritzten Fraktionen beträgt für first set 9,5 Tage und für second set 8,8 Tage.

Die Mittelwerte der gespritzten Fraktionen aller Versuchsreihen B, D und E sind aus der auf Seite 90 abgebildeten Tabelle ersichtlich.

Versuch	Fraktion	first set	second set
B	I	8,2	8,0
	II	9,0	8,5
	III	10,1	9,3
	IV	10,1	9,1
D	I	10,2	9,3
	IV	10,1	9,2
E	I	9,1	8,2
	V	9,3	8,0

c) Durchschnittliche Verlängerung der

Überlebenszeit der gespritzten Fraktionen

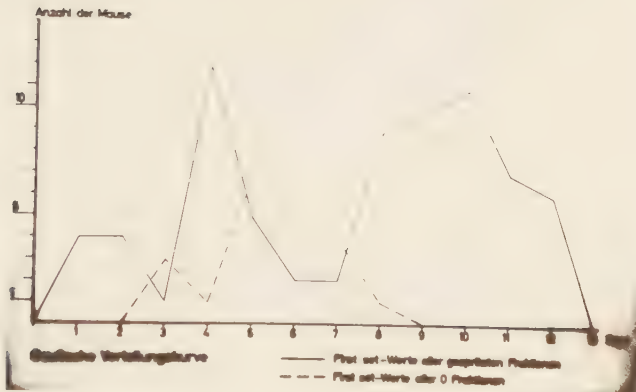
Ein Vergleich der Mittelwerte der Mittelwerte aller unvorbehandelten Fraktionen mit dem Mittelwert der Mittelwerte aller vorbehandelten Fraktionen ergibt für letztere eine durchschnittliche Verlängerung von 3,6 Tagen bezogen auf die Ersttransplantate und von 3,1 Tagen bezogen auf die Zweittransplantate.

d) Gaußsche Verteilungskurve

Die Streubreite der Einzelwerte der Ersttransplantate aller ungespritzten Fraktionen liegt zwischen 3 und 8 Tagen. 65% hielten 5 - 6 Tage.

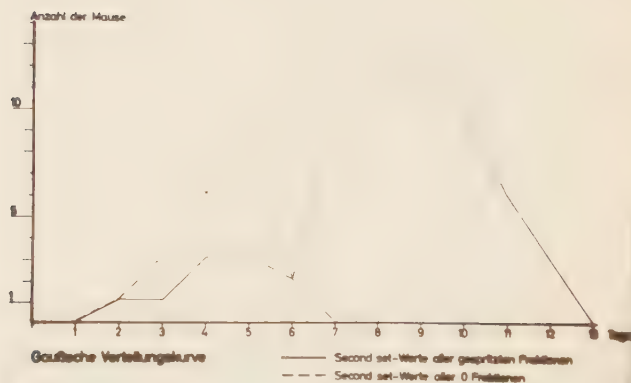
Bei den gespritzten Fraktionen lagen die first set Werte zwischen 1 und 12 Tagen, mit einem Maximum

bei 4 Tagen (16%) und einem zweiten Gipfel bei 8, 9 und 10 Tagen (40%).



Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Zusammenfassung aller Einzelwerte der Überlebenszeiten der Zweittransplantate. Die Streubreite liegt hier zwischen 2 und 6 Tagen. 43% hielten 5 Tage. Für die vorbehandelten Fraktionen ergaben sich Überlebenszeiten zwischen 2 und 12 Tagen, mit einem Maximum bei 7, 8 und 9 Tagen. Aus der graphischen Darstellung Seite 92 geht eindeutig hervor, daß der Gipfel der Einzelwerte der gespritzten Fraktionen bei höheren Überlebenszeiten liegt als bei den Fraktionen, die vorher nicht mit

Antigen behandelt worden waren.



5. Sektionsergebnisse

Ein Vergleich der Milzen unvorbehandelter und nicht transplanterter Mäuse mit den Milzen vorbehandelter, transplanterter Mäuse ergab, daß bei letzteren das Milzgewicht beträchtlich größer war als bei den normalen Kontrolltieren.

6. Histologie

Auf Grund der histologischen Untersuchungen konnten keine Unterschiede zwischen Homo- und Heterotransplantation festgestellt werden.

D i s k u s s i o n

Entsprechend der von M E D A W A R aufgestellten Theorie der spezifischen Immuntoleranz wurde bei Heterotransplantaten versucht, die Abstoßungsreaktion durch Vorbehandlung mit Antigen, das aus Spendermilzgewebe gewonnen worden war, zu unterdrücken. Durch Zentrifugieren des Milzhomogenisates bei verschiedener Erdbeschleunigung wurden in den Versuchen B, D und E insgesamt 5 verschiedene Fraktionen hergestellt, deren Wirkung an Hand der Überlebenszeiten nachfolgend verabreichter Hauttransplantate verglichen wurde. Zu Vergleichszwecken wurden außerdem unvorbehandelte Mäuse mit heterologer Haut transplantiert.

1. Diskussion der Nullversuche

Der für die Überlebenszeit der Ersttransplantate aller unvorbehandelten Kontrolltiere der Versuche B, D und E gefundene Mittelwert in Höhe von 5,9 Tagen deckt sich mit den von E G D A H L und seinen Mitarbeitern bei Transplantation unvorbehandelter Ratten mit Kaninchenhaut ($5,9 \pm 2$ Tage) bzw. mit Mäusehaut ($6,0 \pm 2$ Tage) gewonnenen Ergebnissen.

Der für die Zweittransplantate gefundene Mittelwert liegt mit 4,8 Tagen um 1,1 Tage unter der durchschnittlichen Überlebensdauer der Ersttransplantate, bestätigt also das bei Homotransplantation beschriebene Phänomen, daß nach dem ersten Kontakt eines Organismus mit einem Transplantat ein zweites Transplantat vom gleichen Spender durch den Empfängerorganismus rascher abgestoßen wird.

2. Diskussion der Fraktionen I, II, III, IV, V

Die Streubreite der Einzelwerte der Ersttransplantate aller vorbehandelten Versuchstiere liegt zwischen 1 und 12 Tagen, mit einem Maximum bei 4 Tagen und einem zweiten Maximum bei 8, 9 und 10 Tagen. Da in allen Versuchsreihen mit gleichaltrigen weiblichen Mäusen eines reinerbigen Inzuchtstammes experimentiert wurde, können diese unterschiedlich langen Überlebenszeiten nicht durch Individual- Alters- oder Geschlechtsdisposition erklärt werden, sondern dürften zumindest zu einem großen Teil durch Fehlerquellen, die sich bei der in diesen Untersuchungen angewendeten Methodik nicht ausschließen ließen, verursacht sein. So wurde der Zustand der Transplantate nur makroskopisch nach Härte, Farbe und Temperatur beurteilt. Eindeutige Aussagen über

die Überlebensdauer konnten auf diese Weise nicht gemacht werden.

Auffällig ist die Tatsache, daß ein großer Prozentsatz der Transplantate bereits nach 4 - 5 Tagen abgestoßen wurde, daß nur sehr wenige Transplantate 6 - 7 Tage lang überlebten, und daß die Mehrzahl der Transplantate nach einem Zeitraum von 8, 9 und 10 Tagen abgestoßen wurde. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei den Zweittransplantaten. Auch hier unterlag die Überlebensdauer Schwankungen von 2 - 12 Tagen, mit einem, wenn auch nicht so stark ausgeprägten, Maximum bei 4 - 5 Tagen und einem zweiten Gipfel bei 7, 8 und 9 Tagen. Vermutlich sind die nach 4 Tagen abgestoßenen Transplantate aufgrund mangelnder Transplantationstechnik gar nicht angegangen. Für diese Annahme spricht auch die Tatsache, daß im letzten Versuch E bei verbesserter Transplantationstechnik kaum noch so niedrige Überlebenszeiten gefunden wurden. Wie schon erwähnt hielten viele Transplantate den mechanischen Belastungen nicht stand. Die große Beweglichkeit der Mäuse, ungenügende Fixation der Transplantate im Wirtslager durch zu wenig Nähte oder zu locker geknüpfte Knoten führten dazu, daß die Transplantate an den betreffenden Stellen abrissen, sich von der

Unterlage hoben und sehr schnell nekrotisch wurden.

Das second set Phänomen konnte bei den vorbehandelten Versuchstieren nicht eindeutig bestätigt werden. Insgesamt betrachtet liegen die Mittelwerte der Zweittransplantate zwar etwas unter den Mittelwerten der Ersttransplantate, bei Betrachtung der Einzelwerte fällt jedoch auf, daß sehr viele Zweittransplantate gleich lange, häufig sogar länger hielten. Ein Beweis dafür, daß durch die massive Vorbehandlung mit Antigenextrakt tatsächlich ein Zustand der Toleranz induziert wurde.

Ein Vergleich der Fraktionen I, II, III, IV, V an Hand der Überlebenszeiten der Transplantate läßt keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich ihres Wirkungsgrades erkennen. Die in Versuch B herausgefundene Diskrepanz zwischen Fraktion I einerseits und Fraktion III und IV andererseits ließ sich in Versuch D nicht bestätigen. Auch die in Versuch E erstmals eingeführte Fraktion V (Überstand von 1000 g) unterschied sich nicht von den anderen Fraktionen. Es ist anzunehmen, daß die in den vorliegenden Untersuchungen verwendeten Fraktionen zu nahe beieinander lagen. Da mit der zur Verfügung stehenden Gefrierzentrifuge nur maximal 30000 g erzielt

werden konnten, war es nicht möglich, die Fraktionen weiter auseinander zu ziehen.

3. Vergleich der gespritzten Fraktionen mit den unvorbehandelten Kontrollfraktionen

Ein Vergleich der Mittelwerte der Überlebenszeit der Transplantate der gespritzten Fraktionen mit der Überlebenszeit der Transplantate der Versuchstiere, die vorher keinen Antigenextrakt des Spenders erhalten hatten, ergab für die Ersttransplantation eine Verlängerung von 3,6 Tagen, für die Zweittransplantation eine Verlängerung von 3,1 Tagen. Obwohl diese Werte außerhalb der Signifikanzgrenze der Nullserie liegen, ist eine Verlängerung von 3 - 4 Tagen natürlich gering. Möglicherweise könnten durch Anwendung einer höheren Dosis bessere Ergebnisse erzielt werden. Allerdings müßte man dann wohl eine größere Letalität bei den Versuchstieren in Kauf nehmen.

Zur weiteren Klärung der in dieser Arbeit behandelten Probleme auf dem Gebiet der Induktion spezifischer Toleranz bei Heterotransplantationen wären Versuche unter geänderten Bedingungen wie zum Beispiel Steigerung der Dosis des injizierten Antigenextraktes, Verwendung von Fraktionen, die durch Zentrifugieren

mit mehr als 30000 g gewonnen werden, Änderung der Transplantationstechnik und eventuell zusätzliche Behandlung mit Zytostatika und Röntgenbestrahlung erforderlich.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Das Wesen der Abstoßungsreaktion bei Homotransplantaten liegt nach M E D A W A R in einer erworbenen spezifischen individuellen Immunität. Zellgebundene Antigene gelangen auf dem Lymphweg vom Transplantat aus in den regionalen Lymphknoten des Wirtes, wo sie in den Plasmazellen die Antikörperbildung in Gang setzen. Auf dem Blutweg gelangen die Antikörper zum Transplantat, das durch die nun einsetzende Antigen- Antikörper-Reaktion abgestoßen wird. Nach dem ersten Kontakt eines Organismus mit einem Homotransplantat wird ein Zweittransplantat vom gleichen Spender beschleunigt vom Empfängerorganismus abgestoßen.

Bei Heterotransplantation findet eine immense Steigerung der bei Homoplastik beobachteten Reaktionen statt.

In zahlreichen Tierexperimenten wurde versucht, durch Desensibilisierung des Spenders, durch Blockierung zellgebundener Antigene im Wirtsorganismus, durch wechselweise Vorbehandlung von Spender und Empfänger oder durch gleichzeitige Vorbehandlung beider Individuen eine immunologische Toleranz zu

erreichen. So konnte M O N A C O durch Vorbehandlung der Empfängertiere mit Antigenextrakt aus Spendermilzgewebe verlängerte Überlebenszeiten bei Homotransplantaten erzielen.

In Anlehnung an diese Arbeit wurde in den vorliegenden Versuchen nach Vorbehandlung der Empfängertiere mit subzellulären Antigenfraktionen des prospektiven Spenders Haut von erwachsenen Hunden auf erwachsene Mäuse eines reinerbigen Inzuchtstammes übertragen. Die durch Homogenisieren und Zentrifugieren des Spendermilzgewebes bei verschiedener Erdbeschleunigung gewonnenen Antigenfraktionen wurden mit Zuckerlösung verdünnt in einer Tagesdosis von 1,0 se (das heißt Antigenextrakt von 70 mg Milz) 28 mal hintereinander intraperitoneal appliziert. 3 Tage nach der letzten Injektion erhielt jede Maus ein Hauttransplantat vom gleichen Spender und nach Abstoßung dieses Transplantates ein zweites. Die Überlebenszeiten der Erst- und Zweittransplantate wurden mit den von unvorbehandelten Kontrolltieren verglichen.

Die Überlebenszeiten der Ersttransplantate lagen bei unvorbehandelten Mäusen im Durchschnitt bei 5,9 Tagen, die der Zweittransplantate bei 4,7 Tagen. Die Zweittransplantate wurden hier also beschleunigt

abgestoßen.

Die mittlere Überlebenszeit der Erst- und Zweittransplantate der vorbehandelten Versuchstiere unterschied sich in allen Fällen signifikant von der mittleren Überlebenszeit der Transplantate der Mäuse, die vorher kein Spenderantigen verabreicht bekommen hatten.

Es ergab sich für die Ersttransplantate eine durchschnittliche Verlängerung der Überlebensdauer von 3,6 Tagen, für die Zweittransplantate eine durchschnittliche Verlängerung von 3,1 Tagen. Dabei konnten keine Unterschiede zwischen den Fraktionen I, II, III, IV, V festgestellt werden.

Das second set Phänomen konnte bei den vorbehandelten Versuchstieren nicht bestätigt werden. Die Zweittransplantate hielten zum Teil gleich lange, manchmal sogar länger als die Ersttransplantate.

Literaturverzeichnis

- 1 Köhnlein, E. : "Neuere Geschichte der Hauttransplantation unter besonderer Berücksichtigung der Homoio- und Heterotransplantation", Hippokrates 35. Jahrgang 1964 S. 232
- 2 Medawar, P.B. : "Behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits (report to War Wounds Committee of Medical Research Council) J. Anat. 78: 176 - 199, 1944
- 3 Medawar, P.B. : "Second study of behaviour and fate of skin homografts in rabbits (report to War Wounds Committee of Medical Research Council) J. Anat. 79: 157 - 176, 1945
- 4 Medawar, P.B. : Bull. War-Med. 4, 1, 1943
- 5 Medawar, P.B. : Congr. et colloques de l'Université de Liège 1958
- 6 Medawar, P.B. : J. Anat. (Lond.) 78, 176, 1944
- 7 Mitchison, N.A. : Proc. roy. Soc. B 142, 72, 1954
- 8 Medawar, P.B. : Ann. N. Y. Acad. Sci. 68, 255, 1957
- 9 Mitchison, N.A. : "Passive transfer of transplantation immunity". Proc. Roy. Soc., London, s.B. 142: 72 - 87, 1954
- 10 Allgöwer, M.F.G., Blocker and B.W.D. Engley: Plast. reconstr. Surg. 9, 1, 1952
- 11 Weaver, J.M.G.H., Algire and R.T. Prehn: J. nat. Cancer Inst. 15, 1737, 1955
- 12 idem
- 13 Scheiffarth, F. : "Pathophysiologie und Klinik der Allergie". Sonderdruck aus Langenbeck's Archiv und Deutsche Zeitschrift für Chirurgie Band 295, 1960

- 14 Mitchison, N.A. and Dube, O.L.:
"Studies on immunological response to foreign tumor transplants in mouse. II Relation between haemagglutinating antibody and graft resistance in normal mouse and mice pretreated with tissue preparation." J. Exper. Med. 102: 179 - 197, 1955
- 15 Brent, L., Brown, J., and Medawar, P.B.:
"Skin transplantaion immunity in relation to hypersensitivity". Lancet 2: 561 - 564, 1958
- 16 Good, R.A. and Varco, R.L.:
J. Amer. med. Ass. 157, 713, 1955
- 17
Probleme der Transplantation. Dtsch. Med. Wschr. 1940 Nr. 40 S. 1904
- 18 Woodruff, M.F.A.: "Specific Immunological Tolerance"
Reprinted from The Scientific Basis of Medicine Annual Reviews, 1965
- 19 Bücherl, E.S. : "Grundfragen der Organtransplantation".
Klinische Medizin. 18. Jahrg. April 1963. Heft 4, Seite 154
- 20 Toolan, H.W. : Ann. New. York Acad. Sc., 73: 546, 1958
- 21 Woodruff, M.F.A.: "Specific Immunological Tolerance"
Reprinted from The Scientific Basis of Medicine Annual Reviews, S. 126, 1965
- 22 Medawar, P.B. : "Immunity to homologous grafted skin
III Fate of skin homografts transplanted to brain, to subcutaneous tissue, and to anterior chamber of the eye". Brit. J. Eper. Path. 29: 58 - 69, 1948
- 23 Woodruff, M.F.A.: "Transplantation of normal tissue, with special reference to auto- and homotransplants of thyroid and spleen in the anterior chamber of eye, and subcutaneously in guinea pigs".
Philos. Tr. Roy. Soc., London S.B. 234: 559, 1950
- 24 Billingham, R.E., and Boswell, T.:
"Studies on problem of corneal homografts".
Proc. Roy. Soc., London S. B. 141: 392 - 406, 1953

- 25 Murphy, J.B., and Sturm, E.:
"Conditions determining transplantability of tissues in brain". J.Eper. Med. 38: 183 - 197, 1923
- 26 Billingham, R.E., and Silvers, W.K. :
"Studies on cheek pouch skin homografts in Syrian hamster". In Ciba Foundation Symposium on Transplantation. Edited by G.E.W. Wolstenholme and M.P. Cameron - 426 pp.
Boston: Little, Brown, 1962 Pp. 90 - 108
- 27 Billingham, R.E., Brent, L., and Medawar, P.B.:
"Actively acquired tolerance of foreign cells". Nature (London) 172: 603 - 606, 1953
- 28 idem : "Acquired tolerance of skin homografts".
Ann. New. York Acad. Sc. 59: 409 - 416, 1955
- 29 Hasek, M. : "Parabiosis in birds during embryonic development". Csl. Biol. 2: 29 - 31, 1953
- 30 Hasek, M. : "Vegetative hybridization of animals by means of junction of blood circulation during embryonic development". Csl. Biol. 2: 267 -282, 1953
- 31 Hasek, M.: : "Manifestations of vegetative relationship in adaption of higher animals to heterogenous antigens". Csl. Biol. 3: 344 - 351, 1954
- 32 Billingham, R.E., and Brent, C.:
"Acquired tolerance of foreign cells in newborn animals".
Proc. roy. Soc., London S.B. 146: 78 - 90, 1957
- 33 Medawar, P.B. : Introduction In Symposium on Mechanisms of Immunological Tolerance, Liblice, 1961. Mechanisms of Immunological Tolerance: Proceedings of a symposium held at Liblice near Prague. Nov. 8-10, 1961. Edited by Hasek et al. 544 p.p.
New York: Academic Press, 1963
(Symposia CSAV) Pp 17-20

- 34 Billingham, R.E., and Brent, L.:
"Quantitative studies on tissue transplantation of tolerance in newborn mice and studies on phenomenon of runt disease". Philos. Tr. Roy. Soc., London 242: 439-477, 1959
- 35 Kaliss, N. : Ann. N. Y. Acad. Sci. 59, 385, 1955
- 36 Snell, G.D. : J.nat. cancer Inst. 15, 665, 1954
- 37 Bücherl, E. : "Grundlagen der Organtransplantation". Klinische Medizin. 18. Jahrgang. April 1963. Heft 4, Seite 157.
- 38 Martinez, C., Shapiro, F., Kelman, H., Onstad, T., and Good, R.A., : "Tolerance of F_1 hybrid skin homografts in parent strain induced by parabiosis". Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 103: 266 - 269, 1960
- 39 Rubin, B.A. : "Tolerance to skin homografts of adult mice after parabiosis". Nature (London) 184: 205, 1959
- 40 Jensen, E., and Simonsen, M.:
"Induced tolerance after parabiosis: apparent facilitation of tolerance by simultaneous graft- versus- host- reaction". Ann. New York Acad. Sc. 99: 657 - 662, 1962
- 41 Mariani, T., Martinez, C., Smith, J.M. and Good, R.A.:
"Induction of immunological tolerance to male skin homografts in female mice subsequent to neonatal period". Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 101: 596-599, 1959
- 42 Shapiro, F., Martinez, C., and Good, R.A.:
"Homologous skin transplantation F_1 hybrid mice to parent strains". Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 101: 94 - 97, 1959
- 43 Shapiro, F., Martinez, C., Smith, J.M., and Good, R.A.:
"Tolerance of skin homografts induced in adult mice by multiple injections of homologous spleen cells". Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 106: 472 - 475 (1961)

- 44 Brent, L. and Gowland, G. :
"Immunological competence
of newborn mice". Transplantation 1:
372 - 376, 1963
- 45 Uphoff, D.E. : "Drug induced immunological tolerance
for homotransplantation".
Transplantation Bull. 28:
12 - 16, 1961
- 46 Uphoff, D.E., and Pitkin, L.:
"Drug induced immunological tolerance
for homotransplantation of skin".
Blood: 20: 113, 1962
- 47 Lawrence, H.S. : "Some biological and immunological
properties of transfer factor". In
Ciba Foundation Symposium on
Cellular Aspects of Immunity.
Edited by G.E.W. Wolstenholme and
M. O'Connor, 474 p.p.
Boston: Little, Brown, 1960.
Pp 243 - 271
- 48 Turk, J.L. : "Passive transfer of contact sensitivity
of picryl chloride in guinea pigs
with subcellular material". (Nature)
London 191: 915, 1961
- 49 Powell, A.E., Ray, O., Withenack, D., Hubay, C.A.,
and Holden, W.D. : "Skin reaction in guinea pig
homograft donors with cell-free
substance from recipient lymph nodes".
Nature (London) 193: 1198, 1962
- 50 Najarian, J.S., and Feldman, J.D.:
"Passive transfer of transplantation
immunity I Tritiated lymphoid cells.
II Lymphoid cells in multipore
chambers". J. Exper. Med. 115:
1083 - 1093, 1962
- 51 Mannick, J.A., and Egdaahl, R.H.:
"Ribonuclein acid in transformation
of lymphoid cells".
Science 137: 976, 1962
- 52 Linder, O.E.A.: "Unresponsiveness of adult female mice
to male skin isografts after pretreat-
ment with cells and homogenates from
males". Transplantation Bull. 28:
36 - 39, 1961

- 53 Martinez, C., Smith, J.M., Blaise, M., and Good, R.A.:
"Production of immunological tolerance in mice after repeated injections of disrupted spleen cells".
J. Exper. Med. 118: 743 - 758, 1963
- 54 Howard, R.J., Gordon, J.M., Pollara, B., Martinez, C.,
and Good, R.A. : "Induction of Tolerance in Adult
Mice with Subcellular Spleen Fractions".
- 55 Brent, L., Medawar, P.B., and Ruzsiekiewicz, M.:
"Studies on transplantation antigens".
In Ciba Foundation Symposium on
Transplantation. Edited by G.E.W.
Wolstenholme and M.P. Cameron.
426 pp. Boston: Little, Brown 1962
Pp. 6 - 20
- 56 Anthony P. Monaco, M.D., Mary L. Wood, M.A., and
Paul S. Russell, M.D., F. A. C. S.:
"A simple method for the preparation
of cell free transplantation antigens".
Surgical Forum Vol. XV, 1964
- 57 Ellem, K.A.O. and Colter, J.S.:
"The Interaction of Infectious
Ribonucleic Acid with a Mammalian
Cell Line. I. Relationship between
the Osmotic Pressure of the Medium
and the Production of Infectious
Centers". Virology, 11: 434, 1960
- 58 Alexander, H.E., Koch, G., Mountain, J.M., and Van Damme, D.
"Infectivity of Ribonucleic Acid from
Polio Virus in Human Cell Monolayers".
J. Exp. Med., 108: 493, 1958
- 59 Kraus, L.M. : "Formation of Different Hemoglobins in
Tissue Culture of Human Bone Marrow
Treated with Human Deoxyribonucleic
Acid". Nature, 192: 1055, 1961
- 60 Szybalski, W., Szybalski, E.H., and Ragni, G.:
"Genetic Studies with Human Cell Lines".
Natl. Cancer Inst. Monographs,
7: 75, 1962
- 61 Volkin, E. : "Synthesis and Function of the DNA-like
RNA". Federation Proc., 21: 112, 1962

- 62 Nirenberg, M.W. and Mathaei, J.H.:
"The Dependence of Cell-free Protein Synthesis in E. Coli upon Naturally Occurring or Synthetic Polyribonucleotides". Proc. Natl. Acad. Sci., 47: 1588, 1961
- 63 Speyer, J.F., Lengyel, P., Basilio, C., and Ochoa, S.:
"Synthetic Polynucleotides and Amino Acid Code, IV". Proc. Natl. Acad. Sci., 48: 441, 1962
- 64 Spiegelman, S.: "Information Transfer from the Genome". Federation Proc., 22: 36, 1963
- 65 Schwartz, M.R. and Rieke, W.O.:
"Appearance of Radioactivity in Mouse Cells after Administration of Labeled Macromolecular RNA". Science, 136: 152, 1962
- 66 De Carvalho, S. and Rand, H.J.:
"Comparative Effects of Liver and Tumor Ribonucleic Acids on the Normal Liver and Novikoff Hepatoma Cells of the Rat". Nature, 189: 815, 1961
- 67 Amos, H. and Kearns, K.E.:
"Synthesis of Bacterial Protein by Cultured Chick Cells". Nature, 195: 806, 1962
- 68 Mannick, J.A. and Egdahl, R.H.:
"Ribonucleic Acid in Transformation of Lymphoid Cells". Science, 137: 976, 1962
- 69 Fishman, M. and Adler, F.L.:
"Antibody Formation Initiated in v i t r o. II. Antibody Synthesis in X - irradiated Recipients of Diffusion Chambers Containing Nucleic Acid Derived from Macrophages Incubated with Antigen". J. Exp. Med., 117: 595, 1963
- 70 Ashley, F.L., Mc Nall, E.G., Dutt, N.R. Garcia, E.N. and Sloan, R.F.: "The Effects of Nucleic Acids on Homograft Tolerance". Ann. N. Y. Acad. Sci., 87: 429, 1960

- 71 Jolley, W.B., Hinshaw, D.B. and Peterson, M.:
"Effect of Ribonucleic Acid on
Homograft Survival". Surg. Forum, 12:
99, 1961
- 72 Axelrod, A.E. and Cowe, M.:
"Effect of Ribonucleic Acid Extracts
Upon Viability of Skin Homografts
in the Rat". Proc. Soc. Exp. Biol.
and Med., 108: 549, 1961
- 73 Franklin L. Ashley, M.D., D. Berman, B.S. and
J. Jessamy, B.S.: "Further Studies in the Survival
of Skin Homografts as a Function of
Quantity and Frequency of RNA
Injections". The American Journal
of Surgery. Vol. 105, 1963
- 74 Hasek, M. and Straba, T.:
"Immunological Effects of Experi-
mental Embryonal Parabiosis".
Nature 175: 764, 1955
- 75 Brocades, Zaalberg, A., Vos. O., and van Bakkum, D.W.:
"Surviving rat skin grafts in mice".
Nature (London) 180: 238, 1957
- 76 Reilly, R.W. and Woodruff, M.F.A.:
"Induction of Tolerance of Rat Skin
in New Born Mice". Transplantation
Bull. 137, 59 Vol 28
- 77 Sokolic, I.H., Ali Farpour, A.W. Ulin, and John Howard:
"The Use of Heterograft Skin as a
Biological Dressing". Surgical Forum
1960
- 78 Kenneth N. Matsumura:
"Prolonged Survival of Fetal Tissue
Heterotransplants". Plastic and
Reconstructive Surgery. Vol 35 Nr. 3,
1965
- 79 Anthony P. Monaco, M.D., Mary L. Wood, M.A., and
Paul S. Russell, M.D., F.A.C.S.:
"A simple method for the preparation
of cell free transplantation antigens.
Physical and biological properties".
Surgical Forum Vol. XV, 1964

Meinem verehrten Lehrer Herrn Professor Dr. Hegemann danke ich ergebenst für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in den Laboratorien der Chirurgischen Universitätsklinik.

Zu besonderem Dank fühle ich mich verpflichtet Herrn Privatdozent Dr. Bunte für die Überlassung des Themas und die wertvolle Anleitung und Beratung während meiner Arbeit.

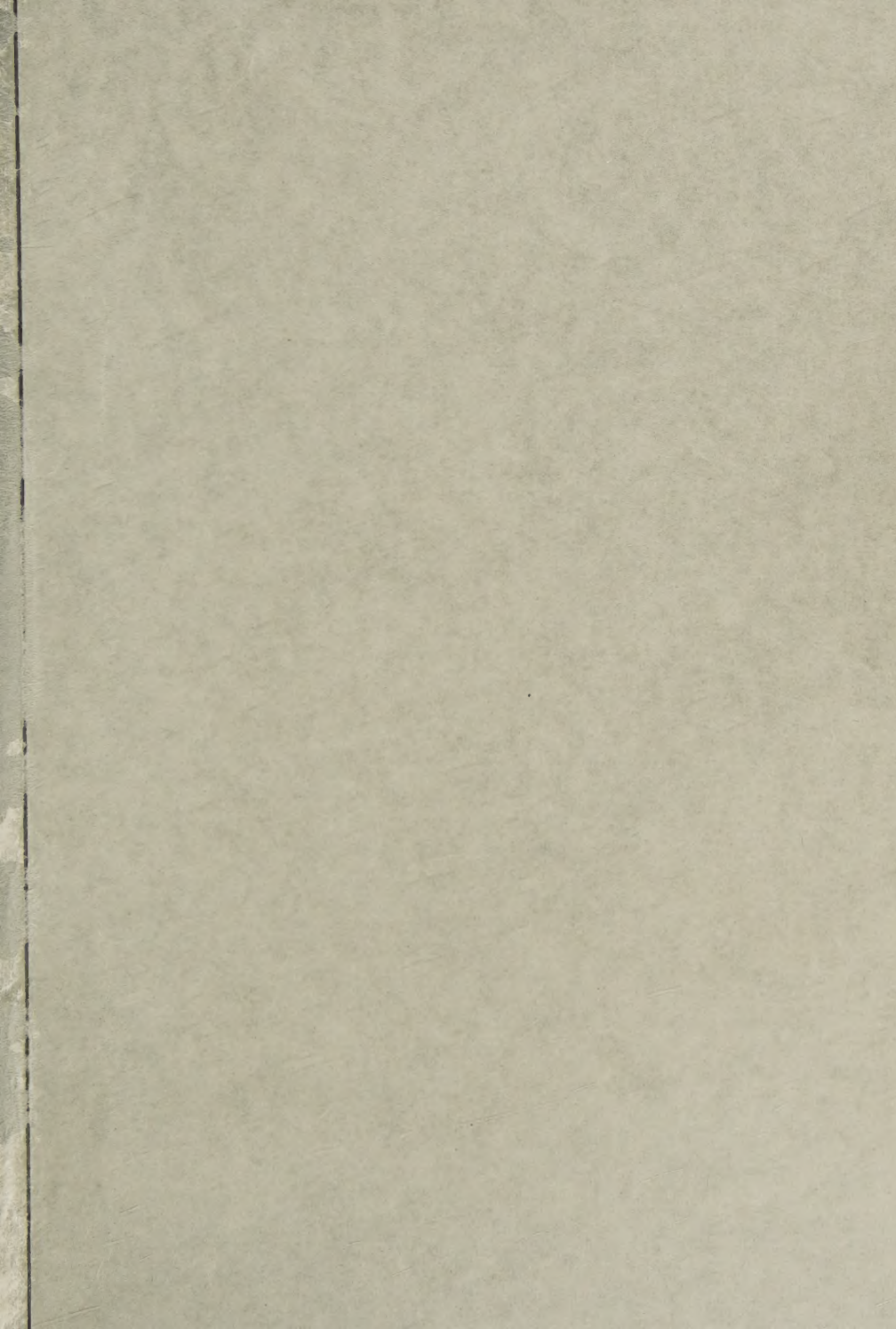
Danken möchte ich auch Herrn Dr. Klenk für die Unterstützung bei der praktischen Durchführung der Arbeit und Frau Imgrund für die Anfertigung der Fotografien.

Lebenslauf

Am 14. Dezember 1938 wurde ich in Bautzen/Sachsen als Tochter des Dr.-Ing. Georg Jüttner, Stadtbaurat von Bautzen, und seiner Ehefrau Erna, geb. Herrmann, geboren.

Die Volksschule besuchte ich von 1945 bis 1949 in Bautzen und Großschweidnitz/Sachsen, die Oberrealschule von 1949 bis 1958 in Lemgo, Hannover und Nürnberg, wo ich 1958 das Abitur ablegte.

Ich studierte Medizin in Erlangen, wo ich im Frühjahr 1963 das Vorphysikum, im Sommer 1964 das Physikum und am 14. Februar 1968 das Staatsexamen bestand.





BUCH- UND FOTODRUCK
LUDWIG MÖLLER
ERLANGEN · FAHRSTR. 5